

KLAIANI BEZ FONTANA

**EFEITO DA INTRODUÇÃO DO GRUPO DODECILA NO  
POLI(ETILENOIMINA) NA ASSOCIAÇÃO COM SURFACTANTES E  
NA ESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES ÓLEO EM ÁGUA**

ORIENTADOR: PROF. DR. EDSON MINATTI

Dissertação de mestrado  
apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Química  
da Universidade Federal de  
Santa Catarina como  
requisito parcial para  
obtenção do título de Mestre  
em Físico-Química.

Florianópolis  
2010



KLAIANI BEZ FONTANA

**EFEITO DA INTRODUÇÃO DO GRUPO DODECILA NO  
POLI(ETILENOIMINA) NA ASSOCIAÇÃO COM SURFACTANTES E  
NA ESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES ÓLEO EM ÁGUA**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para obtenção do título de **Mestre em  
Química** no **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade  
Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 10 de fevereiro de 2010

---

Prof. Dr. Ademir Neves  
Coordenador do Programa

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof Dr<sup>a</sup>. Elenara Lemos Senna  
CCS-UFSC

---

Prof. Dr. Edson Minatti  
Orientador  
QMC-UFSC

---

Prof. Dr. Pedro Luiz M. Barreto  
CCA-UFSC

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Maria Marta S. Sierra  
QMC-UFSC



## **AGRADECIMENTOS**

Ao orientador professor Dr. Edson Minatti por toda dedicação, conhecimentos transmitidos e as idéias que fizeram deste trabalho realidade;

Aos professores Pedro Luiz Manique Barreto, Maria Marta S. Sierra e Elenara Lemos Senna que participaram da Banca Examinadora;

Aos colegas e amigos dos laboratórios 205 e 305;

A minha família pelo afeto, compreensão e apoio durante toda a minha vida;

Ao Eduardo pelo amor sincero, carinho, compreensão e incentivo;

A todos os meus amigos;

Aos laboratórios de: Materiais Poliméricos, Farmacotécnica, Catálise Biomimética, Bioenergética e Bioquímica de Macromoléculas, CERMAV (França);

A Capes pelo suporte financeiro;

A Deus.

# **ÍNDICE GERAL**

## **LISTA DE FIGURAS**

## **LISTA DE TABELAS**

## **LISTA DE ABREVIACÕES**

## **RESUMO**

## **ABSTRACT**

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
1.1. Emulsões.....	15
1.1.1. Mecanismo de desestabilização de emulsões.....	16
1.1.2. Estabilização de emulsões.....	18
1.2. Polieletrólitos .....	22
1.2.1. Poli(etilenoimina) (PEI).....	23
1.2.2. Sistemas polieletrólitos-surfactantes .....	24
1.3. Técnicas .....	25
1.3.1. Fluorescência .....	25
1.3.2. Condutividade Elétrica.....	27
1.3.3. Espalhamento de luz dinâmico (DLS) – determinação do tamanho das gotículas.....	28
1.3.4. Microeletroforese associada a anemometria laser Doppler - Determinação do potencial zeta .....	30
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>32</b>
2.1. Objetivo Geral.....	32

2.2. Objetivos específicos.....	32
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>33</b>
3.1. Soluções e Reagentes .....	33
3.2. Síntese dos poli(etilenoimina)s hidrofobicamente modificados....	33
3.3. Preparo das emulsões O/A .....	34
3.4. Avaliação da estabilidade das emulsões.....	35
3.5. Medidas de fluorescência .....	35
3.6. Medidas de condutividade.....	36
3.7. Medidas de pH .....	36
3.8. Determinação da distribuição, diâmetro médio e potencial zeta das gotículas .....	36
3.9. Medidas de microscopia de transmissão eletrônica (TEM).....	36
3.10. Medidas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e estático (SLS) .....	37
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
4.1. Síntese e caracterização do PEI_D10 e PEI-D30 .....	38
4.2. Interação do PEI e PEI_D10 com SDS e SDoD.....	41
4.2.1. Condutividade elétrica de misturas de PEI e SDS e PEI_D10 e SDS .....	41
4.2.2. Fluorescência para misturas de PEI e SDS e PEI_D10 e SDS ...	43
4.2.3. Condutividade elétrica em misturas de PEI e SDoD e PEI_D10 e SDoD.....	45

4.2.4. Fluorescência para misturas de PEI e SDoD e PEI_D10 e SDoD. .....	47
4.3. Aplicação do derivado PEI_D10 para estabilização de emulsões O/A.....	48
4.4. Caracterização e avaliação da estabilidade das emulsões contendo PEI, PEI_D10 e PEI_D30.....	51
3.5. Influência da força iônica sobre a estabilidade .....	60
4.6. Caracterização das emulsões.....	63
4.6.1. Microscopia de transmissão eletrônica (TEM) .....	63
4.6.2. Espalhamento de luz Estático (SLS) e Dinâmico (DLS). ....	66
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	71
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	72



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação esquemática dos diferentes tipos de emulsões. ....	15
<b>Figura 2.</b> Representação esquemática dos processos de desestabilização de emulsões. <sup>8</sup> .....	17
<b>Figura 3.</b> Variação da energia de interação em função da distância de separação de duas partículas de acordo com a teoria DLVO. (a) energia atrativa devido à força de van der Waals. (b) energia repulsiva devido a dupla camada elétrica. (c) combinação das forças repulsivas da dupla camada elétrica e das forças atrativas de van der Waals <sup>13</sup> . ....	18
<b>Figura 4.</b> Estabilização de emulsões A/O e O/A por surfactantes. <sup>16</sup> ...	19
<b>Figura 5.</b> Mecanismos de estabilização de emulsões O/A: (A) estérica; (B) eletrostática. <sup>19</sup> .....	20
<b>Figura 6.</b> Mecanismo de estabilização eletroestérica. <sup>20</sup> .....	21
<b>Figura 7.</b> Estruturas do PEI em suas formas linear (A) e ramificada (B). <sup>32</sup> .....	23
<b>Figura 8.</b> Auto-organização de polímeros hidrofobicamente modificados e sua associação com surfactantes. <sup>9</sup> .....	25
<b>Figura 12.</b> Representação esquemática da dupla camada elétrica. <sup>41</sup> ...	30
<b>Figura 13.</b> Esquema da síntese dos polímeros hidrofobicamente modificados PEI_D10 e PEI_D30.....	34
<b>Figura 14.</b> Esquema da preparação das emulsões O/A pelo método da emulsificação espontânea. Adaptado de 43.....	35
<b>Figura 15.</b> Esquema da reação de substituição nucleofílica do tipo S <sub>N</sub> 2. ....	38

<b>Figura 16.</b> Espectros de RMN $^1\text{H}$ para o PEI e seus derivados PEI_D10 e PEI_D30.....	39
<b>Figura 17.</b> Razão $I_1/I_3$ versus a concentração do polímero PEI ( $\square$ ) e PEI_D10 ( $\blacksquare$ ) em solução aquosa.....	40
<b>Figura 18.</b> Curva de condutividade específica versus a concentração de SDS em água.....	41
<b>Figura 19.</b> Curva de condutividade específica versus a concentração de SDS na presença de 0,1% de PEI em água. ....	42
<b>Figura 20.</b> Curva de condutividade específica versus a concentração de SDS na presença de 0,1% de PEI_D10 em água.....	43
<b>Figura 21.</b> Curvas da razão $I_1/I_3$ em função da concentração de SDS em água na ausência e em presença de 0,1% do PEI e do PEI_D10. ....	44
<b>Figura 22.</b> Curva de condutividade específica versus concentração de SDoD em água. ....	45
<b>Figura 23.</b> Curva de condutividade específica versus concentração de SDoD em presença de 0,1% do PEI em água. ....	46
<b>Figura 24.</b> Curva de condutividade específica versus concentração de SDoD em presença de 0,1% de PEI_D10 em água.....	46
<b>Figura 25.</b> Curvas da razão $I_1/I_3$ em função da concentração de SDoD na presença de 0,1% do PEI e do PEI_D10 em solução aquosa. ....	47
<b>Figura 26.</b> Emulsões óleo/água estabilizadas com PEI_D10: (A) 0,5 % PEI_D10 com lecitina; (B) PEI_D10 0,5 % sem lecitina; (C) PEI_D10 0,1 % sem lecitina; (D) PEI_D10 0,1 % com lecitina.....	48
<b>Figura 27.</b> Diâmetro médio para as emulsões estabilizadas com PEI_D10 medidos no 5º dia e após o período de 180 dias de emulsificação. ....	49

**Figura 28.** Potencial zeta para emulsões estabilizadas com PEI\_D10, na presença e ausência de lecitina, após 5 e 180 dias de emulsificação.... 50

**Figura 29.** Emulsões óleo/água estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30 no primeiro dia e após 30 dias de emulsificação. Concentração dos polímeros nas emulsões: (A) 0,1%; (B) 0,3%; (C) 0,5%; (D) 0,8% e (E) 1,0%. ..... 52

**Figura 30.** Condutividade específica para emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30. .... 53

**Figura 31.** Valores de pH para emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30. .... 54

**Figura 32.** Diâmetro médio para as emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30 no 1°, 30° e 120° de emulsificação. .... 55

**Figura 33.** Representação esquemática da estabilização das emulsões com PEI (A) e PEI hidrofobicamente modificado (B). .... 56

**Figura 34.** Representação do processo de cremagem em emulsões O/A.  
8 ..... 57

**Figura 35.** Emulsões O/A estabilizadas com PEI após 120 dias. Concentração do PEI nas emulsões: (A) 0,1%; (B) 0,3%; (C) 0,5%; (D) 0,8% e (E) 1,0%. .... 57

**Figura 36.** Potencial zeta para emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30, no primeiro dia e após 30 e 120 dias de emulsificação..... 59

**Figura 37.** Efeito da força iônica sobre o diâmetro médio das gotículas para emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30..... 61

**Figura 38.** Efeito da força iônica sobre o potencial zeta para emulsões estabilizadas com PEI\_D10. A linha é guia para os olhos somente. .... 63

**Figura 39.** Imagens de TEM de emulsões O/A estabilizadas com 1% de: (A) PEI, (B) PEI\_D10 e (C) PEI\_D30. ....64

**Figura 40.** Imagens de Cryo-TEM de emulsões o/w estabilizadas com (A) PEI, (B) PEI\_D10 e (C) PEI\_D30. As faixas escuras vistas em (B) são parte da estrutura do suporte da amostra. ....65

**Figura 41.** Gráfico de Guinier para os dados de espalhamento de luz estático (SLS) de emulsões O/A estabilizadas com PEI e derivados, conforme legenda inserida no gráfico. Os valores de raio de giração médio inseridos foram calculados com base no coeficiente angular dos segmentos lineares das curvas (vide texto). ....67

**Figura 42.** Curvas  $g_2$  de autocorrelação de DLS no ângulo de  $90^\circ$  de emulsões O/A estabilizadas com PEI e derivados. ....68

**Figura 43.** Histograma de distribuição de tamanho obtido pela análise regularizada CONTIN<sup>49</sup> da curva de autocorrelação de DLS no ângulo de  $90^\circ$  da emulsão estabilizada com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30. ....69

**Figura 44.** Dependência angular da frequência de relaxação das curvas de autocorrelação do espalhamento de luz dinâmico (DLS) de emulsões O/A estabilizadas com PEI e derivados, conforme legenda inserida no gráfico. Os valores de raio hidrodinâmico médio foram calculados através da equação de Stokes-Einstein, usando o coeficiente angular das curvas como  $D_0$  (vide texto). ....70

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Índices de polidispersidade para as emulsões estabilizadas com PEI\_D10 na ausência e na presença de lecitina, avaliados no quinto dia e após o período de 180 dias de emulsificação..... 50

**Tabela 2.** Índices de polidispersidade para as emulsões estabilizadas com PEI e PEI\_D10 e PEI\_D30, avaliados no primeiro dia e após o período de 30 e 120 dias de emulsificação..... 58

**Tabela 3.** Índices de polidispersidade para as emulsões estabilizadas com PEI e PEI\_D10 e PEI\_D30 na presença de NaCl..... 61

## LISTA DE ABREVIACÕES

cmc - Concentração Micelar Crítica

PEI – Poli(etilenoimina)

PEI\_D10 - Poli(etilenoimina) hidrofobicamente modificado com grau de substituição de aproximadamente 10 %,

PEI\_D30 - Poli(etilenoimina) hidrofobicamente modificado com grau de substituição de aproximadamente 30 %,

DLVO - Teoria de estabilidade de dispersão desenvolvida pelos cientistas Derjaguin e Landau e Verwey e Overbeek,

SDS - Dodecilsulfato de Sódio

SDoD - Dodecanoato de Sódio

cac - Concentração de Agregação Crítica

psp - Ponto de Saturação do Polímero

I<sub>1</sub> - Intensidade de Fluorescência do Pireno obtido em 372,8 nm

I<sub>3</sub> - Intensidade de Fluorescência do Pireno obtido em 384,0 nm

IP – Índice de Polidispersidade

O/A – Emulsão óleo em água

A/O – Emulsão água em óleo

A/O/A- Emulsão dupla água em óleo em água

O/A/O – Emulsão dupla óleo em água em óleo

PHM - Polieletrólito Hidrofobicamente Modificado

SLS – Espalhamento de Luz Estático

DLS - Espalhamento de Luz Dinâmico

TEM – Microscopia de Transmissão Eletrônica

S<sub>N</sub>2 – Substituição Nucleofílica Bimolecular

D<sub>o</sub> - Coeficiente de Difusão Translacional

Γ – Frequência de Relaxação da curva de autocorrelação de DLS

R<sub>g</sub> - Raio de Giro ou de Giração

R<sub>H</sub> - Raio Hidrodinâmico

## RESUMO

Emulsões são definidas como sistemas heterogêneos composto por dois líquidos imiscíveis ou parcialmente miscíveis, onde um líquido encontra-se finamente disperso no outro, na forma de gotículas. As emulsões possuem grande importância e são amplamente utilizadas em uma variedade de aplicações na indústria. Esse fato impulsiona em grande parte a investigação básica para compreender a origem da instabilidade e os métodos para impedir a sua desestabilização. Neste contexto, esse trabalho tem como objetivo avaliar a influência da modificação hidrofóbica do emulsificante poli(etilenoimina) (PEI) sobre a estabilização de emulsões óleo em água. A modificação hidrofóbica do PEI foi realizada com a introdução de cadeias n-alquílicas na sua estrutura. Os derivados foram caracterizados através das técnicas de RMN  $^1\text{H}$  e fluorescência, sendo estes identificados com dois diferentes graus de substituição 10% (PEI\_D10) e ~ 30% (PEI\_D30) e suas interações com surfactantes foram realizadas a fim de avaliar as suas características hidrofóbicas. A estabilidade das emulsões preparadas com diferentes concentrações dos polímeros (PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30) foram avaliadas através do acompanhamento da evolução do diâmetro médio e do potencial zeta durante quatro meses. Técnicas de microscopia (TEM e Cryo-TEM) e espalhamento de luz (SLS e DLS) foram utilizadas para caracterização das emulsões. Os resultados mostraram que as emulsões monodispersas e estáveis foram obtidas quando foi utilizado o PEI\_D10 e PEI\_D30 como emulsificantes, enquanto o PEI não modificado resulta em emulsões com diâmetros na ordem de micrometros e gotas altamente polidispersas.

Palavras Chaves: Emulsão, Estabilidade, Poli(etilenoimina)

## ABSTRACT

Emulsions are defined as heterogeneous systems composed by two immiscible or partially miscible liquids, where one liquid is finely dispersed in another in the form of droplets. Emulsions have great importance and are widely used in a variety of applications in industry. These facts improve the basic research to understand the source of instability and the methods to prevent its destabilization. In this context, the aims of this study are evaluate the influence of hydrophobic modification of the emulsifier poly(ethyleneimine) (PEI) on the stabilization of oil in water emulsions. The hydrophobic modification of PEI was carried out with the introduction of n-alkyl groups in PEI structure. The derivates were characterized by  $^1\text{H}$  NMR and fluorescence, which are identified with two different degrees of substitution  $\sim 10\%$  (PEI\_D10) and  $\sim 30\%$  (PEI\_D30) and their interactions with surfactants were followed in order to evaluate their hydrophobic characteristics. The stability of emulsions prepared with different concentrations of polymers (PEI, PEI\_D10 and PEI\_D30) was evaluated by tracking the evolution of the mean diameter and the zeta potential in four months. Direct image (TEM and Cryo-TEM) and scattering (DLS and SLS) techniques were used to characterize the emulsions. The results showed that the most monodisperse and stable emulsions were obtained when PEI\_D10 and PEI\_D30 were used as emulsifiers, while the non-modified PEI led to emulsions with micrometer sized and highly polydispersed drops.

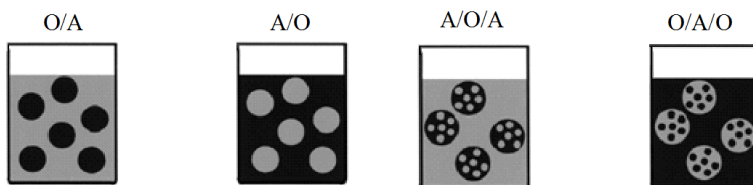
Key words : Emulsion, Stability, Poly(ethyleneimine)



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Emulsões

Emulsões são definidas como sistemas heterogêneos composto por dois líquidos imiscíveis ou parcialmente miscíveis, onde um líquido encontra-se finamente disperso no outro, na forma de gotículas.<sup>1</sup> São formadas por processos mecânicos, como agitação, resultando em sistemas de baixa estabilidade, a qual pode ser aumentada com o uso de aditivos, tais como os surfactantes.<sup>2</sup> As emulsões podem ser classificadas de acordo com a natureza da fase dispersa (fase interna) e o meio de dispersão (fase externa ou contínua). Se a fase dispersa é oleosa e o meio de dispersão aquoso, estas são chamadas de emulsões óleo em água (O/A), por outro lado, se a fase dispersa é aquosa e o meio de dispersão oleoso a emulsão é do tipo água em óleo (A/O). Há também as emulsões múltiplas, onde as gotículas da fase dispersa também contêm gotículas menores dispersas dentro delas, podendo se classificadas em dois tipos: emulsões água em óleo em água (A/O/A), onde a fase interna oleosa possui gotículas de água dispersas em seu interior, e emulsões óleo em água em óleo (O/A/O), em que a fase interna aquosa apresenta gotículas de óleo dispersas em seu interior.<sup>3</sup> A Figura 1, apresenta uma representação esquemática da classificação das emulsões segundos esses critérios.



**Figura 1.** Representação esquemática dos diferentes tipos de emulsões.<sup>4</sup>

As emulsões também podem ser classificadas de acordo com o tamanho das gotículas. Essa classificação varia entre os autores, mas pode-se considerar que microemulsões correspondem as emulsões com gotículas de tamanho entre 1 ~ 100 nm e nanoemulsões entre 20 ~ 200 (500) nm.<sup>4-6</sup> As microemulsões, ao contrário das nanoemulsões, são

sistemas transparentes ou translúcidos e são termodinamicamente estáveis.

As emulsões possuem grande importância na indústria onde são amplamente utilizadas em uma variedade de aplicações, tais como: cosméticos, alimentos, detergentes, adesivos, revestimentos, tintas, tratamentos de superfícies, pavimentação rodoviária, produtos farmacêuticos, agroquímicos, extração do petróleo e controle da poluição ambiental. As emulsões O/A possuem grande relevância principalmente devido a sua capacidade de transportar substâncias hidrofóbicas na fase aquosa.<sup>7</sup> A grande aplicabilidade das emulsões na indústria impulsiona, em grande parte, a investigação básica para compreender a origem da instabilidade e os métodos para impedir a sua desestabilização.<sup>8</sup>

#### 1.1.1. Mecanismo de desestabilização de emulsões

As emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis e tendem a desfazer-se ao longo do tempo. Esse processo de desestabilização das emulsões pode ocorrer através de diferentes processos físico-químicos:<sup>9-11</sup>

*Sedimentação/Cremagem:* esses fenômenos de desestabilização ocorrem devido a diferença de densidade entre as duas fases. No processo de cremagem as gotículas tendem a subir para a parte superior enquanto que na sedimentação elas descem para a parte inferior do frasco. A cremagem é mais comum que a sedimentação porque muitas emulsões são do tipo O/A, e o óleo tende a ser menos denso que a fase aquosa.

*Coalescência:* consiste na ruptura irreversível da emulsão levando a separação das fases. Na colisão entre duas gotículas, as interfaces distorcem, até chegarem numa espessura crítica onde ocorre a ruptura, e conseqüentemente a fusão das gotículas, formando gotículas maiores. A coalescência extensiva pode levar a formação de uma camada separada de óleo no topo da emulsão.

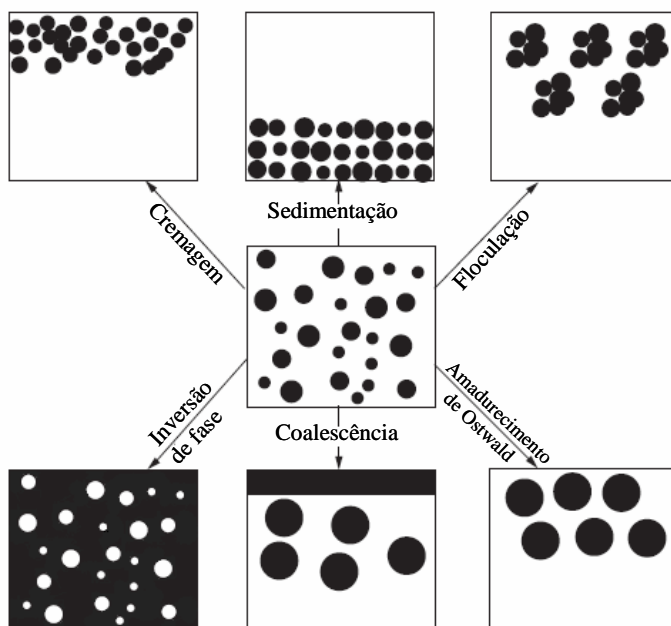
*Amadurecimento de Ostwald:* ocorre em emulsões polidispersas (gotículas de vários tamanhos) constituídas por dois líquidos que não são completamente imiscíveis. Ocorre um fluxo das pequenas gotículas para as gotas maiores através da fase contínua, aumentando assim, o

diâmetro médio das gotículas e diminuindo o seu número, ou seja, as gotículas pequenas desaparecem e as grandes aumentam de tamanho.

*Inversão de fase:* corresponde a inversão da fase contínua e dispersa. Pode ser ocasionada por fatores como temperatura e o aumento do volume da fase dispersa. Ela aparece como um fenômeno de desestabilização, mas também pode ser utilizada para produzir nanoemulsões.

*Floculação:* ocorre quando duas ou mais gotículas se agrupam para formar agregados em que elas mantêm a sua integridade. É um processo reversível.

Os fenômenos de desestabilização de emulsões estão apresentados esquematicamente na Figura 2:



**Figura 2.** Representação esquemática dos processos de desestabilização de emulsões.<sup>8</sup>

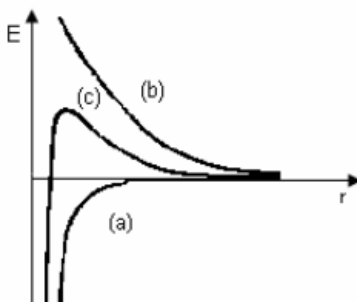
### 1.1.2. Estabilização de emulsões

A estabilidade de uma dispersão é determinada pela interação entre as partículas durante as colisões devido ao movimento Browniano. De acordo com a teoria desenvolvida pelos cientistas russos Derjaguin e Landau e os holandeses Verwey e Overbeek, conhecida como teoria DLVO, a estabilidade pode ser descrita como a interação entre as suas forças repulsivas e atrativas. A teoria DLVO clássica envolve estimativas da energia de atração (forças de Van der Waals) e da energia de repulsão (sobreposição das duplas camadas elétricas), ambas em termos da distância entre as partículas.<sup>12,13,8</sup> Sendo que, a energia total de interação é expressa pela Equação 1:

$$V_T = V_A + V_R \quad \text{Eq. 1}$$

Onde  $V_A$  e  $V_R$  correspondem à energia atrativa e repulsiva, respectivamente.

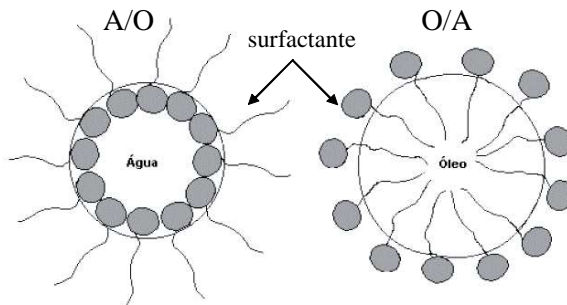
Esta teoria propõe que uma barreira de energia resultante da força repulsiva impede que as partículas aproximem-se uma da outra e fiquem aderidas. Mas se as partículas colidem com energia suficiente para superar essa barreira, a força atrativa irá atraí-las. Assim, as partículas se aderem fortemente e irreversivelmente, mantendo-se juntas. Portanto, para que se tenha uma suspensão estável, é necessário que as forças de natureza repulsiva superem as forças atrativas, como pode ser observado na Figura 3.<sup>13</sup>



**Figura 3.** Variação da energia de interação em função da distância de separação de duas partículas de acordo com a teoria DLVO. (a) energia atrativa devido à força de van der Waals. (b) energia repulsiva devido a dupla camada elétrica. (c) combinação das forças repulsivas da dupla camada elétrica e das forças atrativas de van der Waals.<sup>13</sup>

Na curva (a) está representada a energia potencial devido à força de atração de van der Waals, em função da distância de separação entre as duas partículas e a curva (b) apresenta a energia de repulsão. A resultante das forças repulsivas da dupla camada e das forças atrativas de van der Waals é representada pela curva (c). Toda vez que a curva c tiver um máximo relevante, o colóide terá estabilidade cinética.<sup>13</sup>

A estabilidade da emulsão é o tema de muitos trabalhos e pode ser considerado o principal fator que afeta a qualidade de produtos nesta forma. Se a emulsão for preparada a partir da homogeneização de dois componentes líquidos puros, a separação em fases será geralmente rápida, especialmente se for elevada a concentração da fase dispersa. Para preparar emulsões razoavelmente estáveis é necessária a presença de um terceiro componente: um agente emulsificante. O emulsificante adsorve rapidamente na interface e facilita a formação da emulsão pela redução da tensão interfacial. A formação desse filme em torno das gotículas dispersas ajuda a impedir os fenômenos de desestabilização como a floculação e a coalescência.<sup>12,14,15</sup> A Figura 4 ilustra a estabilização de gotículas de emulsões A/O e O/A utilizando surfactante como agente estabilizante.

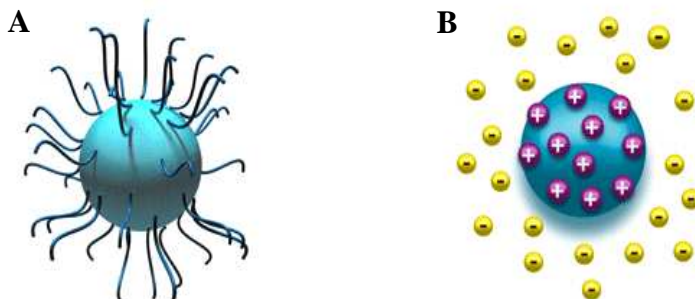


**Figura 4.** Estabilização de emulsões A/O e O/A por surfactantes.<sup>16</sup>

Com relação às emulsões O/A dois mecanismos fundamentais de estabilização podem ser considerados: a estabilização estérica e a eletrostática. A estabilização estérica pode ser alcançada utilizando-se surfactantes não iônicos e polímeros, que possuam na estrutura molecular segmentos liofílicos de tamanho considerável. Este tipo de estabilização é causada por uma barreira termodinâmica, indicada por uma variação positiva da energia de Gibbs, como resultado da diminuição da entropia conformacional das cadeias de tamanho  $a$

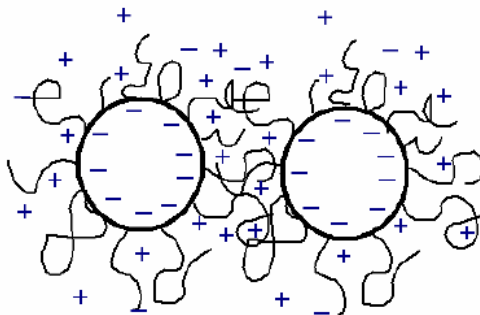
quando duas gotas se aproximam a uma distância igual ou menor do que 2.a. Um requisito necessário para a estabilização estérica ser eficaz é que a fase contínua seja um bom solvente para as cadeias do polímero que projetam-se no meio circundante.<sup>9</sup>

A estabilização eletrostática é baseada na interação repulsiva que resulta quando as duplas camadas elétricas difusas em torno das partículas começam a se sobrepor. A estabilização eletrostática é freqüentemente obtida com a utilização de surfactantes iônicos ou polieletrólitos. Os agentes emulsificantes iônicos quando presentes na interface induzem o aparecimento de cargas elétricas na região. Na região próxima a interface forma-se um potencial elétrico que provoca o acúmulo preferencial de íons de cargas opostas a da interface (contraíons), que por sua vez atraem íons de mesma carga que a da interface (co-íons); esse conjunto de íons forma um gradiente de concentração que se dissipa a medida que se afasta da interface e é conhecido como dupla camada elétrica difusa. Esta é a responsável pela repulsão eletrostática.<sup>17</sup> Quando duas gotículas aproximam-se a uma distância  $h$  que é menor que a extensão da dupla camada elétrica, ocorre uma sobreposição das duplas camadas e então há repulsão.<sup>8</sup> A magnitude da repulsão depende do potencial de superfície (potencial zeta) e da concentração de eletrólitos. Em baixas concentrações de eletrólitos, as duplas camadas são estendidas e a energia repulsiva em distâncias intermediárias torna-se maior que a atração de van der Waals, produzindo uma barreira energética que previne a aproximação das gotículas.<sup>18</sup> Na Figura 5 estão representados os fenômenos de estabilização estérica e eletrostática.



**Figura 5.** Mecanismos de estabilização de emulsões O/A: (A) estérica; (B) eletrostática.<sup>19</sup>

As emulsões são freqüentemente estabilizadas por mais de um mecanismo. Em muitos sistemas, a estabilização estérica e eletrostática são combinadas. Essa combinação é comumente chamada de “estabilização eletroestérica” e geralmente é alcançada quando se utiliza polieletrólitos para estabilizar as emulsões.<sup>9</sup> Esse tipo de estabilização está representado na Figura 6.



**Figura 6.** Mecanismo de estabilização eletroestérica.<sup>20</sup>

Há uma grande variedade de emulsificantes naturais ou sintéticos que são utilizados para preparar as emulsões, como por exemplo, pequenas moléculas de surfactantes, fosfolípidios, proteínas e polissacarídeos. No entanto, não existe um único emulsificante que seja ideal para todas as emulsões. Cada tipo de emulsificante tem suas vantagens e desvantagens. Por exemplo, alguns emulsificantes são eficazes para produzir gotículas pequenas durante a homogeneização devido a sua rápida taxa de adsorção, mas são fracos em proporcionar a estabilidade das gotículas em longo prazo, porque eles não fornecem fortes interações repulsivas entre as gotículas.<sup>21-23</sup> Muitos estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de melhorar a estabilidade das emulsões, como por exemplo, a combinação dos benefícios de diferentes emulsificantes, como os polieletrólitos com surfactantes de cargas opostas. Estes formam uma espécie de membrana multicamada em torno das gotículas proporcionando maior estabilidade,<sup>24</sup> ou por modificações feitas nos polímeros, como, por exemplo, a introdução de grupos hidrofóbicos nas cadeias de polieletrólitos, que tem se mostrado uma

alternativa bastante promissora interessante para atuar com agentes estabilizantes de emulsões e formação de nanopartículas.

## 1.2. Polieletrólitos

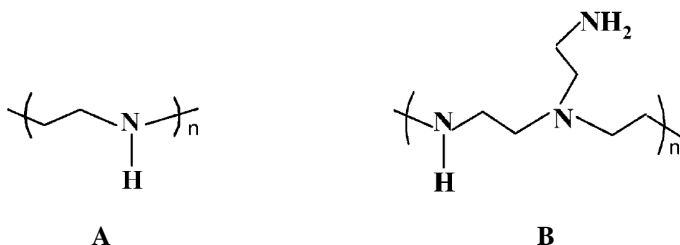
Os polieletrólitos são polímeros que contém diversos grupamentos ionizáveis. Estes polímeros em solução aquosa apresentam propriedades bastante diferentes dos polímeros neutros.<sup>25</sup> Os polieletrólitos representam uma classe interessante de polímeros pois além da sua ampla variedade de estruturas moleculares, suas propriedades apresentam forte dependência do pH e da força iônica do meio. Esses polímeros estão fortemente relacionados com processos vitais, desempenham um importante papel em muitos ramos da tecnologia moderna e são uma valiosa ferramenta na solução de problemas da água e do solo.<sup>26</sup> Em geral, os polieletrólitos são solúveis em água e em outros solventes polares. A presença dos grupos iônicos influencia na sua solubilidade e também nas interações intra e intermoleculares. As repulsões intramoleculares entre os grupos iônicos levam a uma conformação mais estendida das cadeias do que normalmente observado em polímeros neutros.<sup>27</sup>

Outra classe de polímeros são os polieletrólitos hidrofobicamente modificados (PHM). Estes vêm despertando interesse de pesquisa nos últimos anos, devido a sua semelhança com sistemas biológicos, assim como sua forte tendência de auto-organização em meio aquoso devido as interações hidrofóbicas.<sup>26-28</sup> Ainda, os PHMs são macromoléculas anfifílicas e tendem a permanecer na região interfacial. Sendo assim, o uso de PHMs parece ser de especial interesse nessa área.<sup>27</sup> No processo de emulsificação e estabilização de emulsões, os polieletrólitos hidrofobicamente modificados atuam adsorvendo na interface O/A, onde a parte hidrofílica permanece no meio aquoso. As moléculas de polieletrólitos são estendidas devido a repulsão iônica intramolecular e, conseqüentemente, estes polímeros fornecem uma estabilização eletroestérica para as emulsões.<sup>29</sup> Entre os PHMs destaca-se o poli(etilenoimina), um polieletrólito de fácil obtenção/modificação e com grande aplicação industrial.



### 1.2.1. Poli(etilenoimina) (PEI)

O PEI é um polímero orgânico hidrossolúvel neutro que possui uma alta densidade de grupos aminos, que podem ser protonados em solução aquosa, tornando-o um polieletrólito catiônico.<sup>30, 31</sup> O PEI está disponível comercialmente nas formas ramificada e linear (Figura 7).



**Figura 7.** Estruturas do PEI em suas formas linear (A) e ramificada (B).<sup>32</sup>

Em sua forma linear o polímero possui grupos aminos secundários. Esta forma apresenta um maior número de estudos se comparada à forma ramificada. Já, as propriedades apresentadas pela forma ramificada impulsionaram um crescente interesse pelo seu uso na formulação de fármacos e detergentes comerciais e industriais.<sup>32</sup> A forma ramificada possui grupos aminos primários, secundários e terciários quimicamente reativos e pode ser facilmente derivatizada por um grande número de grupos funcionais, o que lhe permite oferecer características variadas, com diferentes aplicações. O PEI hidrofobicamente modificado pode apresentar as propriedades dos polímeros puros associadas as propriedades anfifílicas. A sua modificação com longas cadeias de halogenetos de alquila tem mostrado muitas propriedades interessantes.<sup>30</sup>

O interesse no estudo das propriedades do PEI e seus derivados anfifílicos estão associados a sua importância prática. Estes podem ser empregados, dentre outras, na recuperação do petróleo, como agentes complexantes em química analítica. O PEI e seus derivados possuem ainda, atividade catalítica na transferência de grupos acilas e fosforilados. Além disso, o PEI tem se mostrado um importante polímero, sendo aplicado na área da biotecnologia.<sup>33, 34</sup>

### 1.2.2. Sistemas polieletrólitos-surfactantes

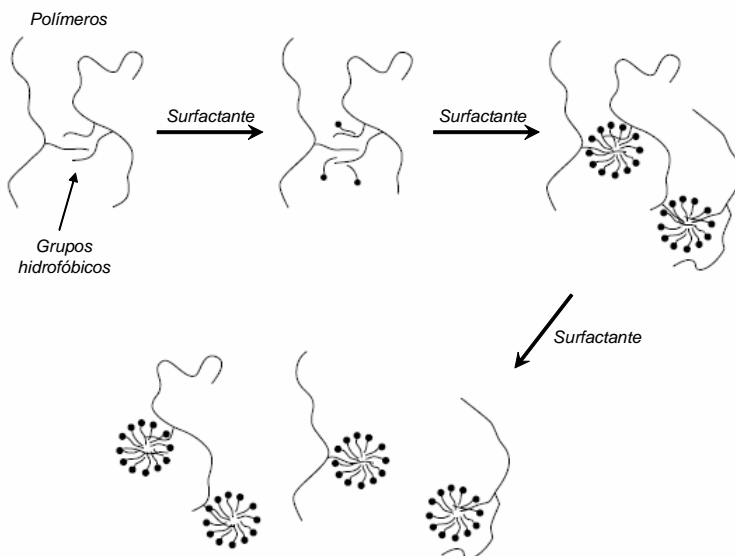
Os polieletrólitos, assim como os polímeros neutros, associam-se com surfactantes em solução aquosa formando complexos termodinamicamente estáveis, com propriedades físico-químicas diferentes daquelas observadas em soluções micelares. Esses sistemas vêm sendo intensamente estudados nas últimas décadas devido as suas várias aplicações técnicas. Essas misturas de polímeros-surfactantes são utilizadas, por exemplo, em cosméticos, detergentes, tintas e recuperação terciária do petróleo.<sup>35-37</sup>

Os estudos de complexos formados por polímero-surfactante mostram que os surfactantes interagem cooperativamente com o polímero a partir da “concentração de agregação crítica” (*cac*) formando agregados micelares ao longo da cadeia do polímero. Isto é a base para quase todos os sistemas constituídos por polímeros e surfactantes iônicos. Nestes vários sistemas polímero-surfactante, o valor da *cac* depende de forças eletrostáticas, das características estruturais dos grupos carregados, da presença de grupos hidrofóbicos no polímero e outros fatores como a flexibilidade da cadeia polimérica e do tipo de contra-íon.<sup>37</sup> O processo de associação cooperativa continua até que, numa determinada concentração, agregados de polímero-surfactante coexistem com as micelas do surfactante. Esta concentração é designada como “ponto de saturação do polímero” (*psp*).

Quando o polímero é um polieletrólito, a interação com surfactante de carga oposta é mais intensa, mesmo a baixas concentrações de surfactante, devido a uma interação específica de formação de par iônico. Se o surfactante for de mesma carga ou não iônico somente a associação cooperativa ocorre, governada predominantemente por efeito hidrofóbico.

No caso dos polímeros hidrofobicamente modificados, também existe uma interação polímero-micela mais intensa. Quando o surfactante é adicionado ocorre uma forte interação com os grupos hidrofóbicos do polímero, como pode ser observado na Figura 8.

Os grupos hidrofóbicos reforçam as interações entre as cadeias poliméricas e servem como um sítio de ligação para as micelas.<sup>27, 9</sup>



**Figura 8.** Auto-organização de polímeros hidrofobicamente modificados e sua associação com surfactantes.<sup>9</sup>

### 1.3. Técnicas

Atualmente diversas técnicas são empregadas para caracterizar os polímeros e surfactantes bem como para avaliar suas possíveis interações. Dentre estas, destacam-se as técnicas de tensão superficial, condutividade elétrica, viscosidade e fluorescência. Entretanto, no que se refere ao estudo de estabilidade das emulsões, geralmente dois parâmetros são principalmente monitorados: a distribuição e tamanho das gotículas e o potencial zeta. Neste caso, as técnicas de espalhamento de luz e mobilidade eletroforética são comumente empregadas. A seguir há uma breve descrição de algumas das técnicas utilizadas nesse estudo.

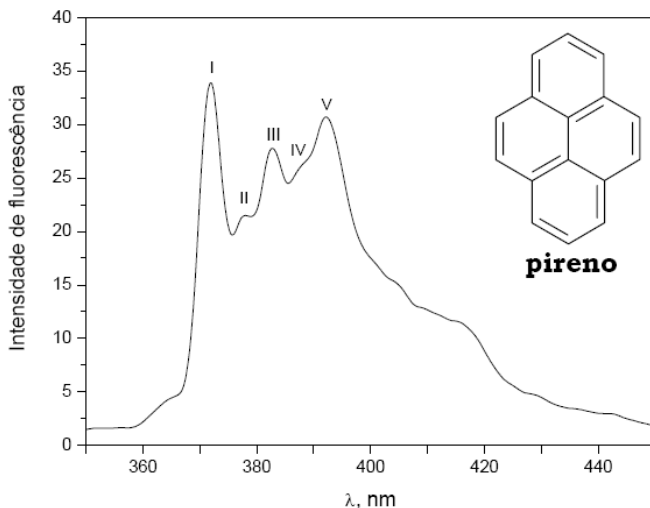
#### 1.3.1. Fluorescência

A fluorescência é um processo de fotoluminescência no qual os átomos ou moléculas são excitados por absorção de radiação eletromagnética. Assim, ao retornarem ao estado fundamental, ocorre a liberação de energia através da emissão de radiação. Entre as suas

aplicações, a fluorescência tem sido muito utilizada para estudar a interação entre polímeros, polieletrólitos e seus derivados hidrofobicamente modificados com surfactantes.

Para avaliar as interações entre polímero-surfactante é necessário a presença de uma sonda fluorescente na solução. As sondas fluorescentes referem-se a uma variedade de moléculas e íons que, sob apropriada excitação eletromagnética, emitem luz. Na prática, as características da banda de emissão da sonda são exploradas para fins de monitoramento do microambiente de sistemas moleculares organizados e estão atreladas a fatores como polaridade do meio.

Com esta técnica é possível determinar a *cac*, o número de agregação dos sistemas polímero-surfactante, além do monitoramento do microambiente dentro dos complexos. O pireno é a sonda fluorescente mais usada para este fim. Dentre as propriedades que tornam o pireno uma sonda atraente está a alta sensibilidade à polaridade dos microambientes.<sup>37</sup> A particularidade é que o espectro de emissão exibe bandas de vibração finas cujas intensidades relativas são sensíveis à polaridade do meio. Enumerando as bandas de vibração de 1 a 5, que são observadas na temperatura ambiente (Figura 9), a banda  $I_3$  em 384,0 nm, mostra pouca sensibilidade aos solventes, enquanto que a banda  $I_1$  em 372,8 nm, muda a intensidade em função do solvente, aumentando em solventes polares.



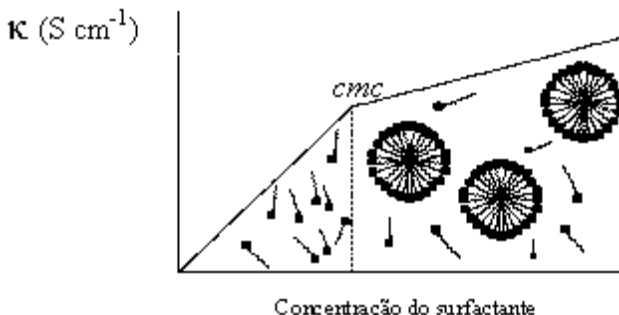
**Figura 9.** Espectros de emissão de fluorescência do monômero do pireno em etanol

A medida da polaridade relativa é expressa em termos da relação  $I_1/I_3$  e é utilizada como critério para avaliar a micropolaridade do meio e de microambientes de agregados micelares. A concentração micelar crítica (*cmc*) e *cac* podem ser obtidas pela mudança da razão  $I_1/I_3$  em função da concentração de surfactante. Assim, no início da formação da micela a razão  $I_1/I_3$  diminui acentuadamente, o que reflete na solubilização do pireno em um ambiente hidrofóbico.<sup>28</sup> A sensibilidade do pireno com relação a polaridade do meio também possibilita utilizar esta técnica como uma forma de caracterizar as modificações hidrofóbicas realizadas nos polímeros.

### 1.3.2. Condutividade Elétrica

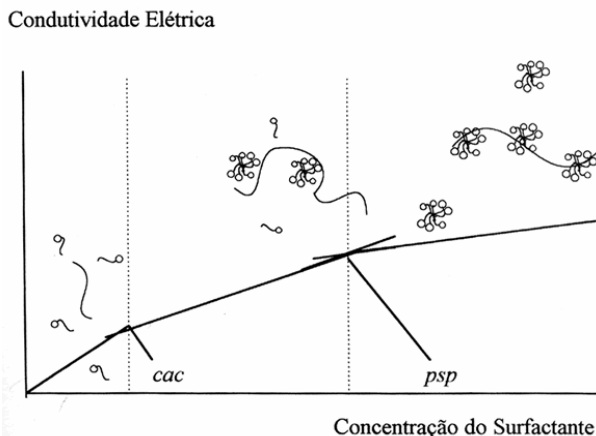
A condutividade elétrica é a medida da mobilidade das espécies iônicas em solução e depende do número de íons presente na solução. Para eletrólitos fortes, a concentração de íons na solução aumenta linearmente com a concentração de eletrólito adicionado, enquanto que para eletrólitos fracos a concentração de íons na solução depende do equilíbrio de dissociação e do coeficiente de atividade dos íons. Neste caso, a condutividade depende do grau de ionização ( $\alpha$ ) do eletrólito.

O perfil da condutividade elétrica em função da concentração de surfactante é um método clássico para determinar a *cmc*, a *cac* e o *psp*. A Figura 10 mostra um exemplo típico da condutividade específica *versus* concentração molar de surfactante. Observa-se que a *cmc*, é obtida na concentração do surfactante correspondente à repentina mudança na inclinação da curva.



**Figura 10.** Curva típica de condutividade específica *versus* concentração de um surfactante.

Na presença de polímero, a curva obtida em titulações condutivimétrica com surfactante exibe diferentes regiões que indicam o início da interação do polímero com o surfactante e a respectiva saturação das cadeias poliméricas. A Figura 11 ilustra um exemplo de uma curva clássica, onde os dois pontos de descontinuidade são conhecidos como concentração de agregação crítica (*cac*) e o ponto de saturação do polímero (*psp*).



**Figura 11.** Ilustração de uma titulação condutivimétrica de surfactante em água indicando a micelização.

A região localizada entre *cac-psp* é aceita e definida como a etapa de formação de agregados micelares que encerra no *psp* onde ocorre a saturação da cadeia polimérica pelo surfactante.<sup>38, 39</sup>

### 1.3.3. Espalhamento de luz dinâmico (DLS) – determinação do tamanho das gotículas

O DLS é também conhecido como espectroscopia de correlação de fótons, sendo esta utilizada para avaliar o tamanho de partículas. Partículas suspensas em um líquido se movem constantemente devido ao movimento Browniano. Uma característica importante do movimento Browniano para o DLS é que partículas pequenas movem-se mais

rapidamente que partículas grandes, portanto, possuem maior coeficiente de difusão ( $D_0$ ).

O DLS mede o movimento Browniano e o relaciona com o tamanho das partículas. Isso é realizado através da incidência de um laser sobre as partículas e analisando a intensidade de flutuação da luz espalhada. Devido ao movimento Browniano, a intensidade da luz espalhada por um conjunto de partículas sofre flutuações ao longo do tempo. A relação entre a intensidade  $I$  de luz espalhada no ângulo  $q$  no tempo  $t$  e no tempo  $(t+\tau)$  é expressa em uma curva de autocorrelação  $g_2$ , tal como expressa na equação 2:<sup>40</sup>

$$g_2(q, \tau) = \frac{\langle I(q, t) I(q, t + \tau) \rangle}{\langle I(q, t)^2 \rangle} \quad \text{Eq. 2}$$

Para sistemas monodispersos, a função  $g(q, \tau)$  tem um único decaimento exponencial com taxa  $\Gamma = D_0 q^2$ , onde  $D_0$  é o coeficiente de difusão translacional no limite ( $q \rightarrow 0$ ), e  $q$  é o vetor de onda que expressa a dependência angular como:

$$|q| = q = \frac{4\pi \sin(\theta/2)}{\lambda} \quad \text{Eq. 3}$$

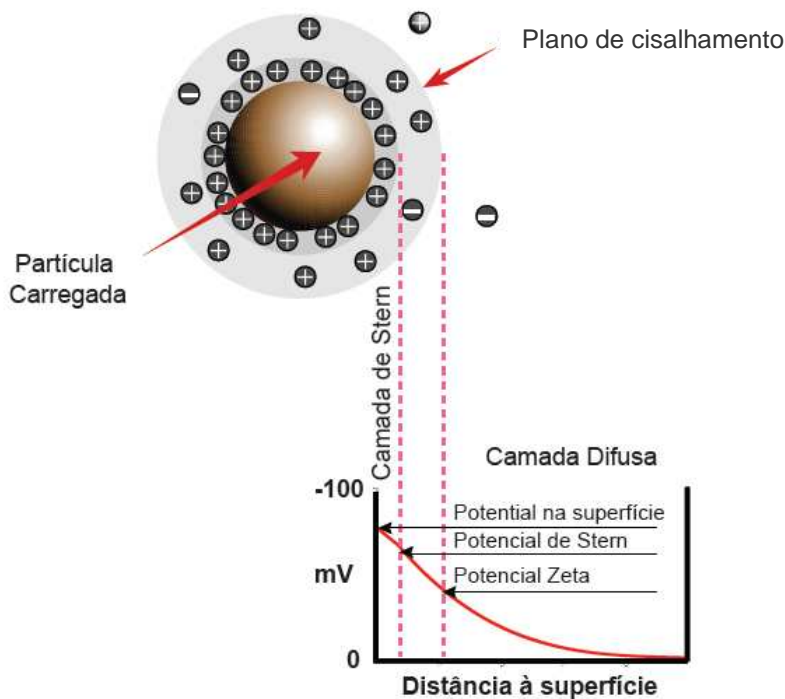
O estudo da dependência angular do DLS de uma amostra pode fornecer a frequência de relaxação média  $\Gamma_{\text{app}}$  para cada ângulo; o coeficiente angular do gráfico de  $\Gamma_{\text{app}}$  vs.  $q^2$  fornece, então, o coeficiente de difusão  $D_0$ . A relação entre o raio hidrodinâmico ( $R_H$ ) de uma partícula e  $D_0$  é definida pela equação de Stokes-Einstein (Equação 4):<sup>41</sup>

$$R_H = \frac{k_B T}{6\pi\eta D_0} \quad \text{Eq. 4}$$

Onde  $k_B$  é a constante de Boltzmann,  $T$  a temperatura e  $\eta$  a viscosidade do solvente.

#### 1.3.4. Microeletroforese associada a anemometria laser Doppler - Determinação do potencial zeta

O desenvolvimento de uma carga na superfície das partículas afeta a distribuição de íons na região interfacial circundante, resultando em um aumento na concentração de contra íons próximos a superfície. Assim, existe uma dupla camada elétrica ao redor de cada partícula. A dupla camada elétrica é constituída por duas partes: uma região interna chamada de camada de Stern, onde os íons estão fortemente ligados, e outra denominada de camada difusa (ou camada de Goy-Chapman) que se distribui em torno da primeira (Figura 12).



**Figura 12.** Representação esquemática da dupla camada elétrica.<sup>41</sup>



Se a partícula se move uma parte desta camada se move como parte da partícula (conhecido como plano de cisalhamento hidrodinâmico). O potencial nessa superfície é conhecido como potencial zeta.<sup>41</sup>

A medida do potencial zeta é realizada pela aplicação de um campo elétrico em toda a dispersão. Partículas com carga migram para o eletrodo de carga oposta com uma velocidade proporcional ao potencial zeta, essa velocidade é denominada mobilidade eletroforética. Esta é medida utilizando usando a técnica de anemometria laser Doppler. Assim, obtém-se o potencial zeta das partículas pela aplicação da lei de Henry (Equação 5):

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(\kappa a)}{3\eta} \quad \text{Eq. 5}$$

Onde:  $U_E$  é a mobilidade eletroforética,  $\varepsilon$  a constante dielétrica,  $\zeta$  o potencial zeta,  $\eta$  a viscosidade e  $\kappa a$  as funções de Henry.

O potencial zeta é um indicador que pode ser usado para prever e controlar a estabilidade de suspensões ou emulsões. Um elevado valor de potencial zeta em módulo ( $> 30$  mV) é importante para a estabilidade físico-química das emulsões uma vez que as forças repulsivas tendem a evitar possíveis agregações da fase interna.<sup>42</sup>

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito da introdução do grupo dodecila no poli(etilenoimina) na associação com surfactantes e na estabilização de emulsões óleo em água.

### 2.2. Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar dois derivados de poli(etilenoimina) (PEI) com a alquilação de 10% e 30%, repectivamente, dos grupos amina na cadeia polimérica;
- ✓ Caracterizar os derivados sintetizados através da técnica de RMN  $^1\text{H}$ ;
- ✓ Verificar a hidrofobicidade dos polímeros modificados através da técnica de fluorescência estacionária do pireno;
- ✓ Estudar a interação dos derivados com os surfactantes dodecilsulfato de sódio (SDS) e dodecanoato de sódio (SDoD);
- ✓ Analisar a influência do polímero modificado PEI\_D10 como estabilizante de emulsões O/A na presença e ausência de lecitina;
- ✓ Avaliar a influência do PEI e seus derivados (PEI\_D10 e PEI\_D30) como agente emulsificante para emulsões de óleo em água;
- ✓ Caracterizar as emulsões estabilizadas com o PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30 através da microscopia de transmissão eletrônica (TEM), espalhamento de luz dinâmico (DLS) e estático (SLS) e medidas do potencial Zeta.
- ✓ Avaliar o efeito da força iônica da fase aquosa nas propriedades das emulsões.
- ✓ Acompanhar a evolução do tamanho, polidispersidade e potencial Zeta das gotas nas emulsões durante 120 dias.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

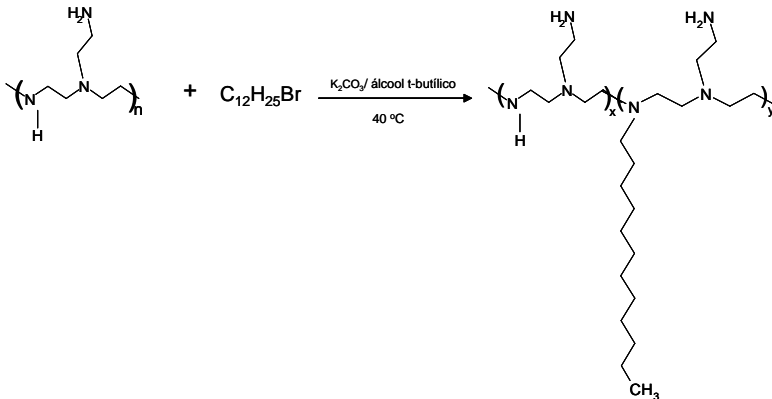
#### 3.1. Soluções e Reagentes

Poli(etilenoimina) (PEI) ramificado de massa molar média igual a  $25000 \text{ g mol}^{-1}$ , da Aldrich. Álcool ter-butilico, carbonato de potássio, acetona e etanol da Vetec. Brometo de dodecila e pireno da Sigma Aldrich. Membrana de diálise, mwco. 2000 (7 Spectra). Dodecil sulfato de sódio (SDS) da Sigma e dodecanoato de sódio (SDoD) preparado a partir de neutralização do ácido dodecanóico (Aldrich). Óleo de rícino da Linfar, NaCl da Merck e Lecitina S100 da Lipoid.

As soluções dos polímeros PEI e PEI\_D10 foram preparadas em água, sob agitação magnética suave durante 12 horas. As soluções de PEI\_D30 foram preparadas em solução de etanol/acetona (2:1 v/v) também sob agitação magnética suave durante 12 horas.

#### 3.2. Síntese dos poli(etilenoimina)s hidrofobicamente modificados

Foram realizadas duas derivatizações, sendo introduzidos 10% (PEI\_D10) e 30% (PEI\_D30) de grupamentos dodecila na estrutura do PEI. A síntese do polímero modificado PEI\_D10, foi realizada dissolvendo 2,64 g de PEI ramificada (0,06 mol por monômero) em 33,6 mL de álcool terc-butilico. Em seguida, adicionou-se 10,08 g de carbonato de potássio e 1,44 mL de brometo de dodecila (0,006 mol). A reação foi realizada a  $40^\circ\text{C}$  sob agitação magnética durante 6 dias, de acordo com a reação apresentada na Figura 13. O mesmo procedimento foi utilizado para a síntese do PEI\_D30, com exceção do brometo de dodecila (0,018 mol), que neste caso foi utilizado 4,32 mL. Em seguida, a purificação dos derivados foi realizada por diálise e o produto liofilizado. A caracterização estrutural dos derivados foi realizada por RMN  $^1\text{H}$ .

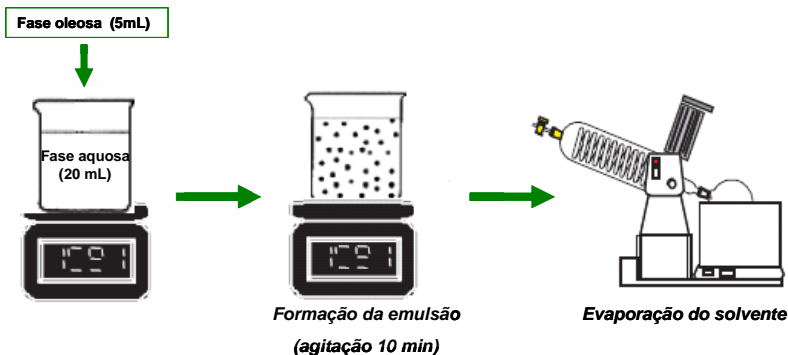


**Figura 13.** Esquema da síntese dos polímeros hidrofobicamente modificados PEI D10 e PEI D30.

### 3.3. Preparo das emulsões O/A

As emulsões O/A foram preparadas utilizando o método da emulsificação espontânea, conforme esquema apresentado na Figura 14. Para as emulsões em que foi utilizado PEI ou PEI\_D10 como agente estabilizante, a fase oleosa foi constituída de 100 mg de óleo de rícino e 5 mL de uma solução de acetona e etanol (60:40 v/v), e a fase aquosa constituída de 20 mL da solução do derivado de PEI ou PEI\_D10 nas concentrações de 0,1 a 1 % (m/v). Em seguida, sob agitação a fase oleosa foi vertida sobre a fase aquosa. Após aproximadamente 10 minutos de agitação, o solvente foi removido com auxílio de um rotaevaporador e o volume final das emulsões ajustado para 20 mL. Nas emulsões contendo a lecitina foi utilizado o mesmo procedimento, mas neste caso, a fase oleosa era constituída de 100 mg de óleo de rícino, 4 mL de uma solução de acetona e etanol (60:40 v/v) e 1 mL de lecitina de soja (S100) na concentração de 1 mg mL<sup>-1</sup>.

Paras as emulsões em que foi utilizado o PEI\_D30, não solúvel em água, a fase aquosa era constituída somente de água (20 mL) e a fase oleosa constituída de 100 mg de óleo de rícino, 4 mL de uma solução de acetona e etanol (60:40 v/v) e 1 mL da solução de PEI\_D30 nas concentrações de 0,1 a 1 % (m/v) preparadas em meio de etanol e acetona (2:1 v/v). Todas as emulsões foram armazenadas em temperatura ambiente para posterior análise.



**Figura 14.** Esquema da preparação das emulsões O/A pelo método da emulsificação espontânea. Adaptado de 43.

### 3.4. Avaliação da estabilidade das emulsões

A estabilidade das emulsões foi avaliada através de medidas de potencial zeta, diâmetro e índice de polidispersidade das gotículas. Inicialmente foi avaliado a estabilidade das emulsões utilizando o PEI\_D10 como emulsificante, na presença e ausência de lecitina. As leituras foram realizadas após 5 e 180 dias da emulsificação. Posteriormente, a estabilidade proporcionada pelo PEI e seus derivados foi avaliada. Neste caso, as medidas foram realizadas no dia do preparo das emulsões e após um período de 30 e 120 dias. Também foi avaliado a influência da força iônica sobre a estabilidade, através da adição de NaCl às emulsões. Neste caso, a leitura do potencial zeta e diâmetro das gotículas foram realizados após 24 horas de armazenamento em temperatura ambiente.

### 3.5. Medidas de fluorescência

As medidas de fluorescência foram realizadas num espectrofotômetro da Hitachi F-4500, equipado com uma cubeta de quartzo de 10 mm. As fendas de excitação e emissão do monocromador foram ajustadas para 10 e 2,5 mm, respectivamente. O pireno foi utilizado como sonda fluorescente em concentração  $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . As amostras foram submetidas ao comprimento de onda de excitação de 336 nm e os espectros de emissão foram registrados de 360 a 500 nm. A

razão  $I_1/I_3$  foi estimada analisando a relação da intensidade máxima do pico em 372,8 nm ( $I_1$ ) e 384,0 ( $I_3$ ).

### **3.6. Medidas de condutividade**

As medidas de condutividade específica foram realizadas utilizando um condutivímetro modelo 170 da ATI-ORION, com uma bureta semi-automática da Metrohm Herisau tipo Multi-Bürette, modelo E-485 com capacidade para 20 mL.

As medidas de condutividade específica em função da concentração de surfactante, na presença ou na ausência dos polímeros, foram realizadas através da adição de pequenas alíquotas de solução estoque de SDS ou SDoD sobre um volume conhecido de solução de PEI ou PEI\_D10, contido numa célula de diluição previamente termostatizada a  $25,0 \pm 0,1$  °C. O eletrodo de condutividade foi imerso na solução e a leitura da condutividade específica foi realizada após cada adição da solução estoque de surfactante. Para as emulsões, as medidas de condutividade específica foram realizadas diretamente nas emulsões.

### **3.7. Medidas de pH**

As medidas de pH foram realizadas com um pHmetro Beckman modelo  $\phi$  71, equipado com um eletrodo de vidro combinado em temperatura ambiente.

### **3.8. Determinação da distribuição, diâmetro médio e potencial zeta das gotículas**

As medidas para a determinação da distribuição, diâmetro médio e potencial zeta das emulsões foram realizadas em temperatura de 25 °C, utilizando o equipamento Zetasizer ZS, da Malvern. As amostras foram diluídas adequadamente e colocadas numa cubeta adequada para posterior análise. O instrumento é equipado com um laser He-Ne e opera em comprimento de onda de 633 nm e com ângulo de detecção de 173°.

### **3.9. Medidas de microscopia de transmissão eletrônica (TEM)**

As imagens de Microscopia de Transmissão Eletrônica (TEM) e Cryo-TEM foram feitas em colaboração com o CERMAV (Grenoble,

FR), utilizando-se um microscópio Philips operando a 150 kV. Para imagens de TEM, as emulsões foram diluídas 10 vezes e 150  $\mu\text{L}$  da diluição foram depositados sobre um suporte de grade de cobre hidrofílico. Após remoção de excesso do material com folha de papel filtro, uma gota de 150  $\mu\text{L}$  de solução do corante (acetato de uranila) foi depositada sobre a amostra e imediatamente retirou-se o excesso. Após secagem à temperatura ambiente, a amostra estava pronta para análise.

As amostras de Cryo-TEM foram preparadas com depósito direto de diluições de 1:10 de cada uma das emulsões sobre um suporte fractal de carbono. Após remoção do excesso, o suporte e amostra foram imediatamente expostos a uma temperatura inferior a  $-120^{\circ}\text{C}$ , com uso de um sistema que opera via líquidos criogênicos. O conjunto então foi levado ao microscópio e mantido a uma pressão inferior a 0,01 mmHg. A pressão então foi ajustada para se atingir o estado vítreo da fase dispersante (água), de modo que esta fase ficasse transparente à transmissão eletrônica.

### **3.10. Medidas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e estático (SLS)**

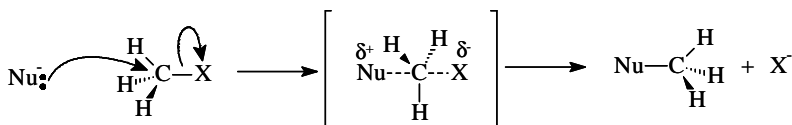
As medidas de espalhamento de luz foram realizadas com um Goniômetro ALV-7002 multicorrelador, com faixa de detecção de  $32^{\circ}$  a  $150^{\circ}$  e operando com laser de 22 mV Ne/Ar 628,2 nm. As amostras eram colocadas em uma cubeta cilíndrica de 5 mL sem diluição e as medidas eram feitas entre  $40^{\circ}$  a  $140^{\circ}$ , em intervalos de  $10^{\circ}$ . Todas as medidas foram feitas em temperatura controlada de  $25,0^{\circ}\text{C}$ .

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Síntese e caracterização do PEI\_D10 e PEI-D30

Entre as várias possibilidades de derivatização existentes na literatura, a alquilação do PEI com haletos de alquila é uma das maneiras simples e econômica para introduzir os grupos hidrofóbicos na estrutura. Os grupos dodecila foram introduzidos porque, além da estabilização eletroestérica proporcionada pelos polieletrólitos, as cadeias alquílicas introduzidas podem promover uma interação maior do polímero com a fase oleosa aumentando a estabilidade dessas emulsões.

A reação ocorre segundo um mecanismo de substituição nucleofílica bimolecular ( $S_N2$ ). Nesse tipo de reação, um nucleófilo, uma espécie com um par de elétrons não-compartilhados (neste caso a amina), reage com um haleto de alquila (chamado de substrato) pela reposição do halogênio substituinte. Nas reações do tipo  $S_N2$  as ligações carbono-halogênio se rompem ao mesmo tempo em que uma nova ligação se forma entre o nucleófilo e o carbono, como está representado genericamente na Figura 15.

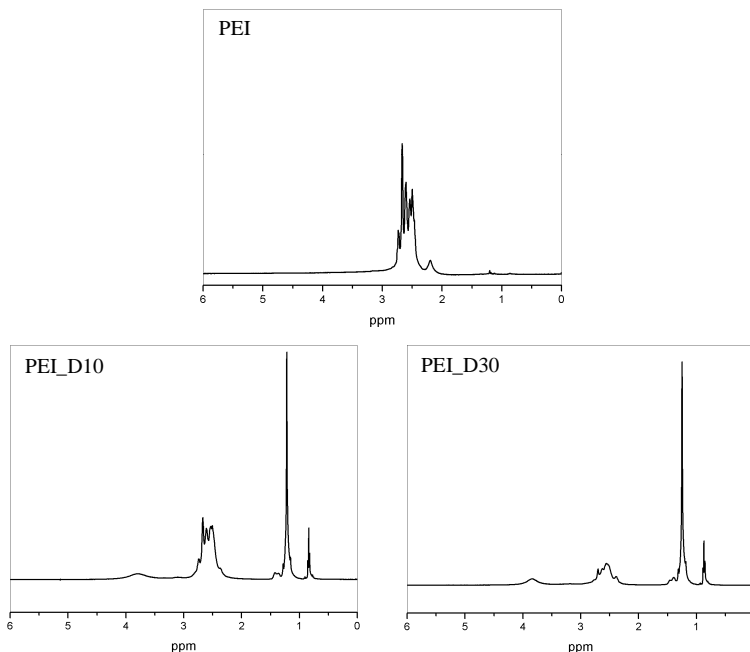


**Figura 15.** Esquema da reação de substituição nucleofílica do tipo  $S_N2$ .

As sínteses dos polímeros PEI\_D10 e PEI\_D30 foram confirmadas por RMN  $^1\text{H}$ . Esta técnica é um método eficiente e muito utilizado para confirmar a modificação de polieletrólitos.<sup>44</sup> Os espectros do PEI modificado foram comparados com o do polímero não modificado (Figura 16). Observa-se claramente que os espectros referentes aos polímeros PEI\_D10 e PEI\_D30 apresentam dois picos característicos dos grupos dodecila introduzidos. Sendo estes em  $\sim 0,83$  ppm e  $\sim 1,21$ - $1,50$  ppm os quais correspondem aos grupos  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ ,



respectivamente, ausentes no espectro do PEI não modificado, comprovando a introdução dos grupos dodecila.

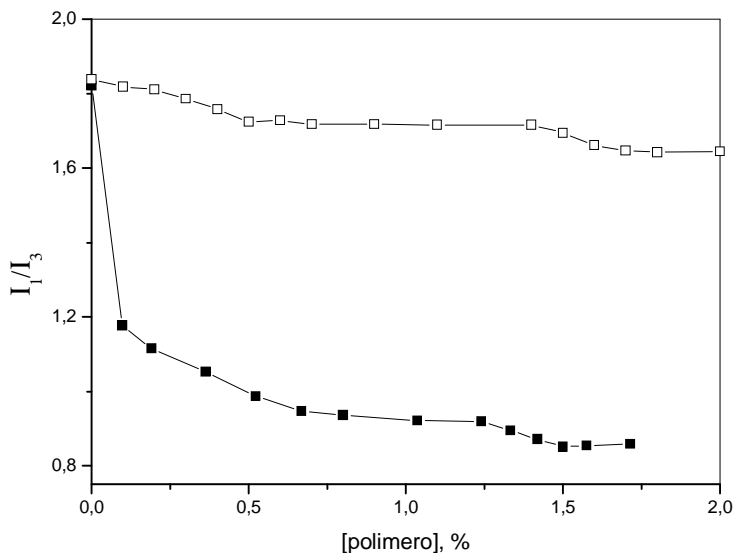


**Figura 16.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para o PEI e seus derivados PEI\_D10 e PEI\_D30.

O PEI ramificado possui aminas primárias, secundárias e terciárias, no entanto, conforme descrito na literatura, a alquilação com haletos de alquila ocorre preferencialmente nas aminas primárias.<sup>45</sup> Através da integração dos sinais presentes no espectro foi determinado o grau de modificação para os dois derivados:  $\sim 10,4$  e  $\sim 28,2\%$ .

Utilizou-se a fluorescência como uma técnica adicional para confirmar o aumento da hidrofobicidade do polímero PEI\_D10. Os perfis da razão  $I_1/I_3$  dos espectros de fluorescência do pireno *versus* a concentração dos polímeros PEI e PEI\_D10 em soluções aquosas foram obtidos e estão apresentados na Figura 17. Sabe-se que a razão  $I_1/I_3$  varia de acordo com a polaridade do meio, variando de valores em torno

de 1,8 para solventes polares até 0,6 em solventes apolares. Assim, observa-se que a razão  $I_1/I_3$  diminuiu acentuadamente na presença do polímero modificado enquanto que essa variação para o PEI foi pouco acentuada.



**Figura 17.** Razão  $I_1/I_3$  versus a concentração do polímero PEI ( $\square$ ) e PEI\_D10 ( $\blacksquare$ ) em solução aquosa.

Na presença de 0,1% (m/v) de PEI o valor da razão  $I_1/I_3$  fica em torno de 1,8 enquanto que na presença de 0,1% (m/v) de PEI\_D10 esse valor diminui até 1,17, confirmando a formação de um ambiente mais apolar na solução do que no caso do PEI não modificado.

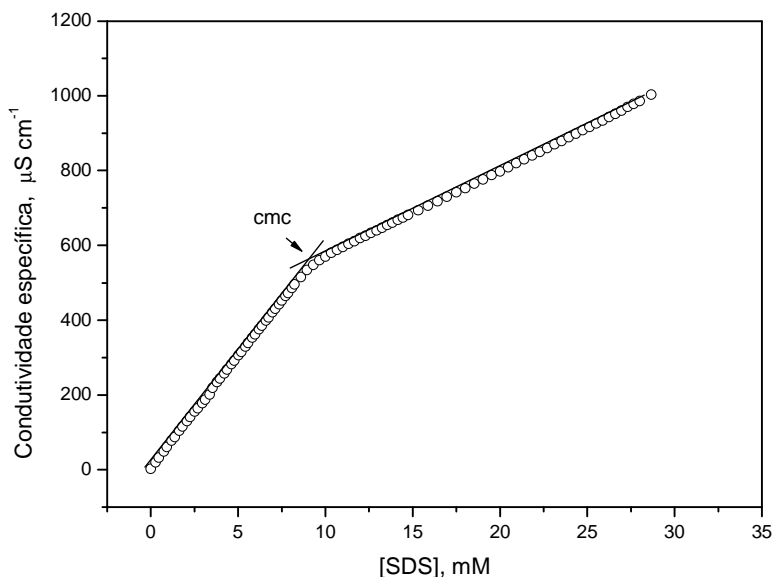
A maior hidrofobicidade do PEI\_D30 reduziu acentuadamente a sua solubilidade em água, não sendo possível, portanto, utilizar essa técnica para verificar o aumento da hidrofobicidade deste polímero. Estudos anteriores já haviam mostrado que a solubilidade do PEI alquilado é limitada a um determinado grau de alquilação para um determinado comprimento da cadeia alquímica.<sup>30</sup>

## 4.2. Interação do PEI e PEI\_D10 com SDS e SDoD

A interação do polímero hidrofobicamente modificado PEI\_D10 com os surfactantes aniônicos SDS e SDoD foi verificada através das técnicas de condutividade elétrica e fluorescência, a fim de avaliar a influência da presença de grupos hidrofóbicos no polímero na associação com os surfactantes quando comparados ao polímero não modificado (PEI).

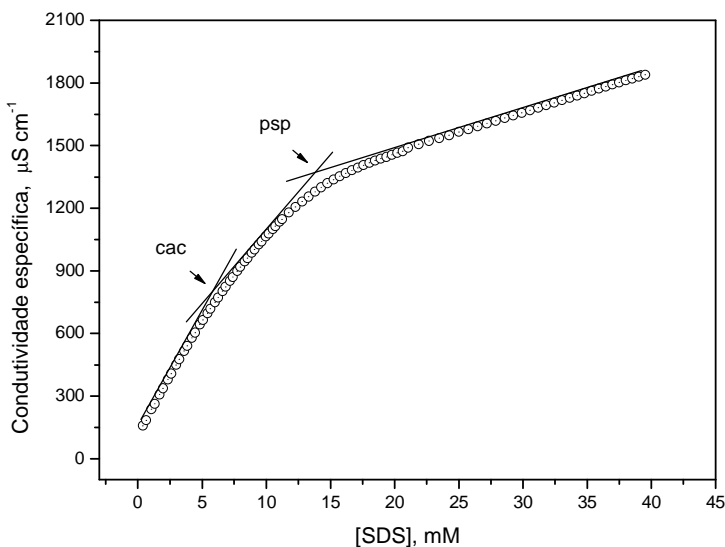
### 4.2.1. Condutividade elétrica de misturas de PEI e SDS e PEI\_D10 e SDS

A Figura 18 apresenta a curva de condutividade específica do SDS em solução aquosa, onde observa-se nitidamente duas regiões lineares com o ponto de intersecção indicando o início da formação dos agregados micelares, ou seja, a *cmc*. Neste caso, a *cmc* ocorreu em aproximadamente 8,9 mM de SDS.



**Figura 18.** Curva de condutividade específica versus a concentração de SDS em água.

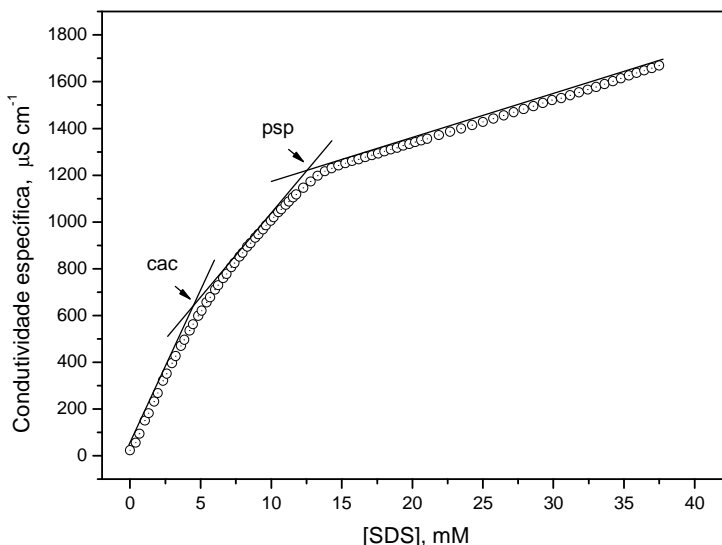
A Figura 19 mostra a curva de condutividade específica *versus* a concentração de SDS na presença de 0,1 % do PEI em água. Neste caso, a curva apresenta dois pontos de descontinuidade e três regiões lineares. Os dois pontos de descontinuidade são denominados de concentração de agregação crítica, *cac*, e de concentração de saturação do polímero, *psp*, por moléculas de surfactante. A *cac* ocorre em aproximadamente 5,6 mM de SDS e caracteriza o início da associação entre o SDS e PEI. Na segunda região, entre os pontos de descontinuidade, assume-se que há a formação de agregados de PEI-SDS. A terceira região formada a partir do segundo ponto de inflexão, *psp*, em 13,7 mM de SDS é interpretada como sendo uma região onde se inicia o processo de saturação do polímero, e que há somente micelas de SDS sendo formadas em equilíbrio com os complexos PEI-SDS.



**Figura 19.** Curva de condutividade específica versus a concentração de SDS na presença de 0,1% de PEI em água.

A curva de condutividade específica em função da concentração de SDS na presença de 0,1% do polímero modificado PEI\_D10 (Figura 20), mostra as mesmas características da curva obtida para o sistema SDS-PEI. Os dois pontos de inflexão, *cac* e *psp*, ocorrem em

concentrações também próximas aos obtidos para SDS-PEI, em aproximadamente 4,5 e 12,5 mM de SDS, respectivamente.

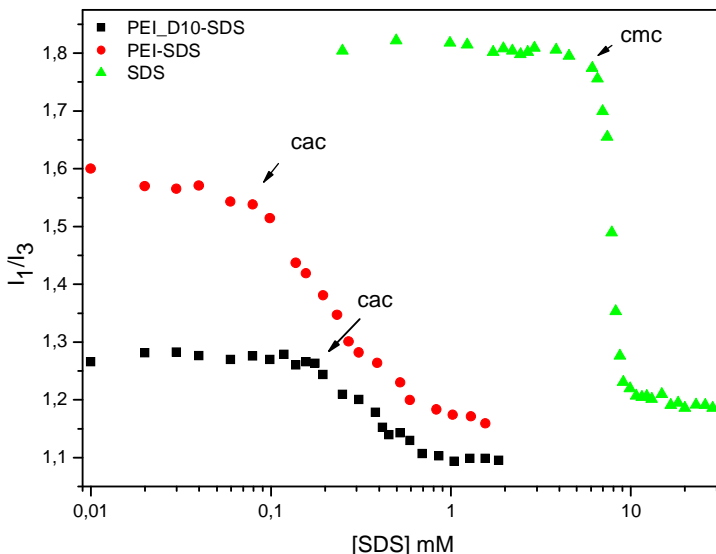


**Figura 20.** Curva de condutividade específica versus a concentração de SDS na presença de 0,1% de PEI\_D10 em água.

Portanto, através da técnica de condutividade elétrica observou-se que assim como ocorre com o PEI, o polímero hidrofobicamente modificado, PEI\_D10, também se associa com o SDS de maneira semelhante.

#### 4.2.2. Fluorescência para misturas de PEI e SDS e PEI\_D10 e SDS

As sondas fluorescentes como o pireno, são utilizadas extensivamente para monitorar a formação de agregados de surfactante e também para determinar a *cmc* das micelas e a *cac* de agregados micelares associados a polímeros. A associação dos polímeros PEI e PEI\_D10 com o surfactante SDS também foi verificada por meio da análise das curvas da razão  $I_1/I_3$  versus a concentração de surfactante. A Figura 21 mostra estes dados.



**Figura 21.** Curvas da razão  $I_1/I_3$  em função da concentração de SDS em água na ausência e em presença de 0,1% do PEI e do PEI\_D10.

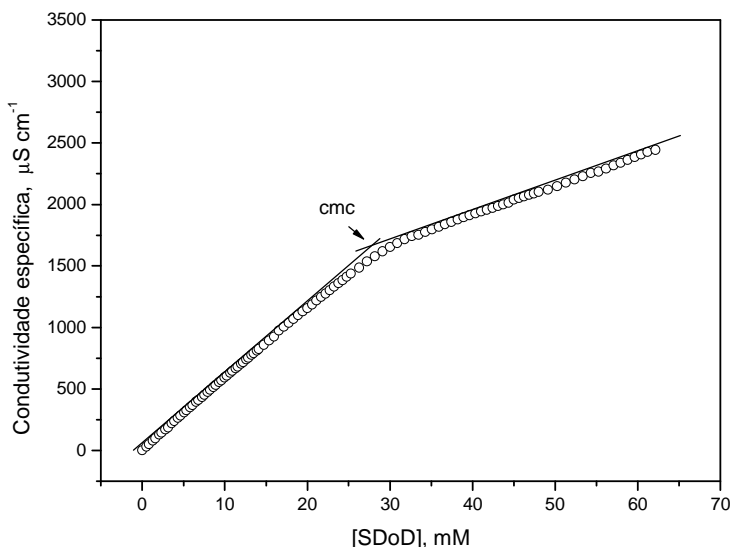
A atribuição mais razoável do valor de *cmc* e *cac* nos perfis observados na Figura 21 referem-se à concentração de surfactante onde o primeiro platô termina. Baseando-se nesta metodologia, o valor de *cmc* para o SDS, ocorreu em torno de 7,0 mM. Quando a titulação é feita somente com SDS, a razão  $I_1/I_3$  antes da *cmc* ficou em torno de 1,8, sendo este valor concordante com a indicação de polaridade da água. A diminuição do valor da razão  $I_1/I_3$  para 1,2, a partir da concentração de 7,0 mM, reflete a alteração na polaridade do microambiente onde o pireno se encontra, correspondendo, portanto, a formação de micelas de SDS. Na presença dos polieletrólitos, os valores da razão  $I_1/I_3$  antes da *cac* foram em torno de 1,6 para o PEI e em torno de 1,3 para o PEI\_D10. Como esperado, o meio mais hidrofóbico corresponde ao polímero derivatizado.

Os valores de *cac* obtidos mostram que o SDS associa-se com o PEI em concentrações menores do que com o PEI\_D10, em torno de 0,08 e 0,16 mM de SDS, respectivamente. O fato do PEI\_D10 ser alquilado deve ter diminuído as fortes interações eletrostáticas específicas entre o polímero, catiônico, e o surfactante aniônico. Os

valores são menores do que os encontrados por condutividade elétrica. Entretanto esses valores são aceitáveis já que se trata de uma técnica mais sensível.

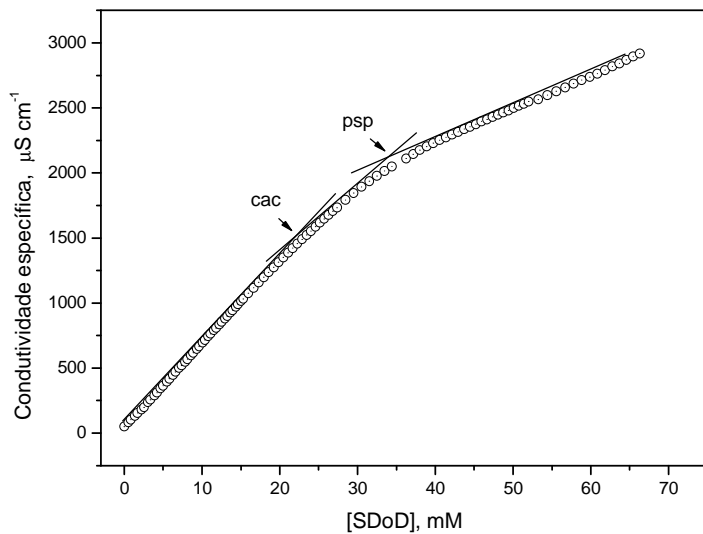
#### 4.2.3. Condutividade elétrica em misturas de PEI e SDoD e PEI\_D10 e SDoD.

A Figura 22 apresenta a curva de condutividade elétrica para o SDoD em solução aquosa. A curva apresenta um perfil similar ao do SDS. O ponto de inflexão indica a *cmc*, que nestas condições experimentais, ocorreu em 27,6 mM de SDoD.

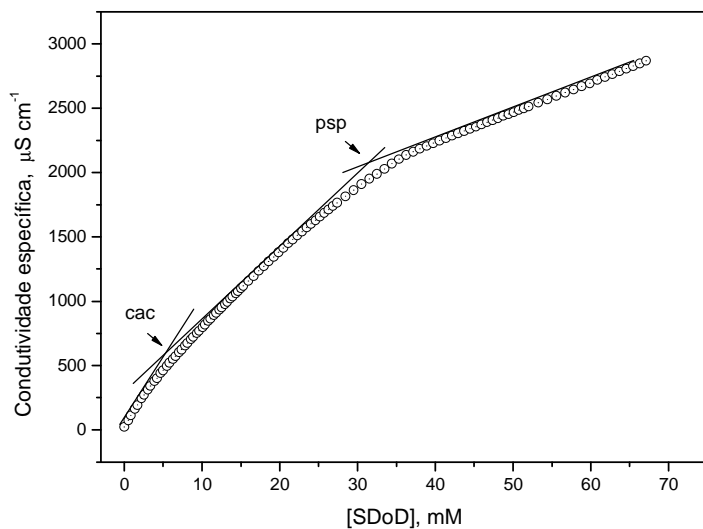


**Figura 22.** Curva de condutividade específica versus concentração de SDoD em água.

As Figuras 23 e 24 apresentam as curvas de condutividade elétrica para o SDoD na presença de 0,1% do PEI e do PEI\_D10, respectivamente. As curvas apresentam-se semelhantes às curvas mostradas anteriormente, com duas inflexões indicando a *cac* e *psp*.



**Figura 23.** Curva de condutividade específica versus concentração de SDoD em presença de 0,1% do PEI em água.



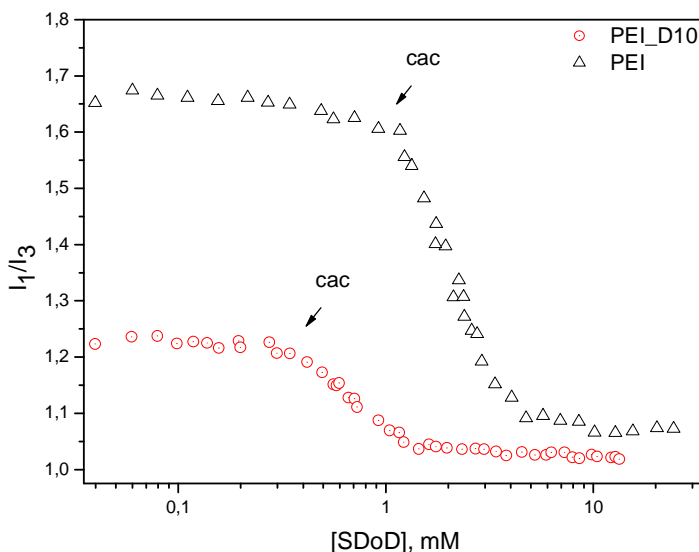
**Figura 24.** Curva de condutividade específica versus concentração de SDoD em presença de 0,1% de PEI\_D10 em água.



Observa-se que para a mistura de SDoD e PEI a *cac* e *psp* ocorreram em torno de 21,9 e 34,2 mM de SDoD, respectivamente, enquanto que para a mistura de SDoD e o derivado PEI\_D10, a *cac* ocorreu em uma baixa concentração de SDoD (5,2 mM). A formação de agregados SDoD/PEI\_D10 em concentrações baixas de surfactante, deve-se possivelmente, as cadeias alquílicas introduzidas as quais, promovem uma interação hidrofóbica maior com esse surfactante. Já o *psp* ocorreu em 31,3 mM de SDoD, valor menor ao encontrado para a mistura SDoD/PEI, da mesma forma que ocorreu com o SDS.

#### 4.2.4. Fluorescência para misturas de PEI e SDoD e PEI\_D10 e SDoD.

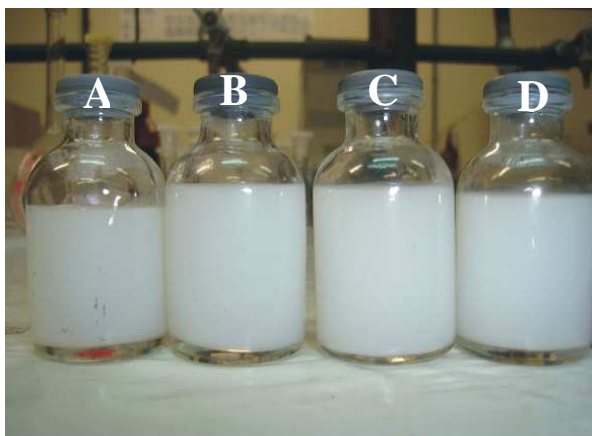
A Figura 25 apresenta o efeito da concentração de SDoD sobre a razão  $I_1/I_3$  na presença de 0,1% PEI e 0,1% PEI\_D10. As curvas mostram que a *cac* para o sistema SDoD/PEI\_D10 ocorreu abaixo do valor encontrado para SDoD/PEI, isso está de acordo com o que foi observado por condutividade elétrica. Os valores de *cac* obtidos foram de aproximadamente de 0,34 e 1,01 mM de SDoD, para o PEI\_D10 e PEI, respectivamente.



**Figura 25.** Curvas da razão  $I_1/I_3$  em função da concentração de SDoD na presença de 0,1% do PEI e do PEI\_D10 em solução aquosa.

### 4.3. Aplicação do derivado PEI\_D10 para estabilização de emulsões O/A

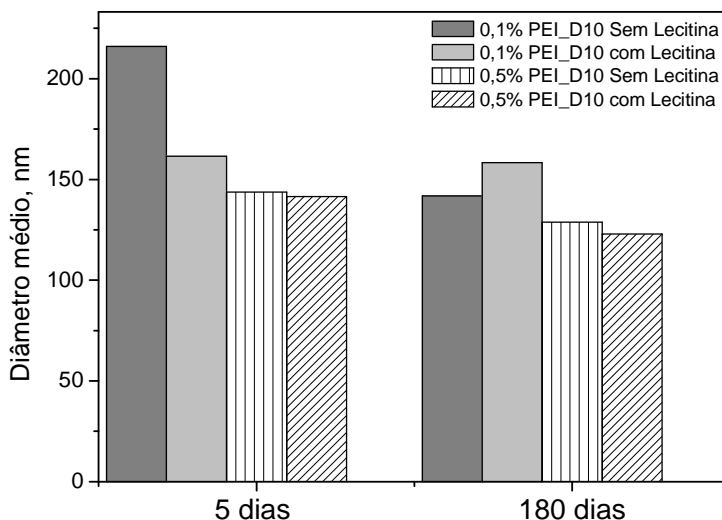
No processo de emulsificação, é comum a utilização de polímeros aliados aos surfactantes a fim de aumentar a sua estabilidade. Inicialmente, neste trabalho foi avaliado o desempenho do PEI\_D10 como agente estabilizante de emulsões O/A, associado a presença e a ausência de lecitina de soja (S100), um tensoativo de origem natural constituído principalmente de fosfatidilcolina.<sup>42</sup> A estabilidade foi avaliada medindo-se o diâmetro e potencial zeta das gotículas no 5º dia e após o período de 180 dias de emulsificação. Foram obtidas emulsões de aspecto homogêneo e leitoso, tanto na presença quanto na ausência de lecitina, como está apresentado na Figura 26.



**Figura 26.** Emulsões óleo/água estabilizadas com PEI\_D10: (A) 0,5 % PEI\_D10 com lecitina; (B) PEI\_D10 0,5 % sem lecitina; (C) PEI\_D10 0,1 % sem lecitina; (D) PEI\_D10 0,1 % com lecitina.

Os valores do diâmetro médio das gotículas obtidos nesse período estão apresentados na Figuras 27. Observa-se que no 5º dia as emulsões contendo 0,1% de PEI\_D10 na presença de lecitina apresentaram diâmetro médio menor do que as emulsões sem lecitina, sendo estes de 215 e 160 nm, respectivamente. Após 180 dias praticamente não houve mudanças no diâmetro médio das gotículas nas

emulsões com lecitina, enquanto que as emulsões sem lecitina essa diminuição foi mais significativa.



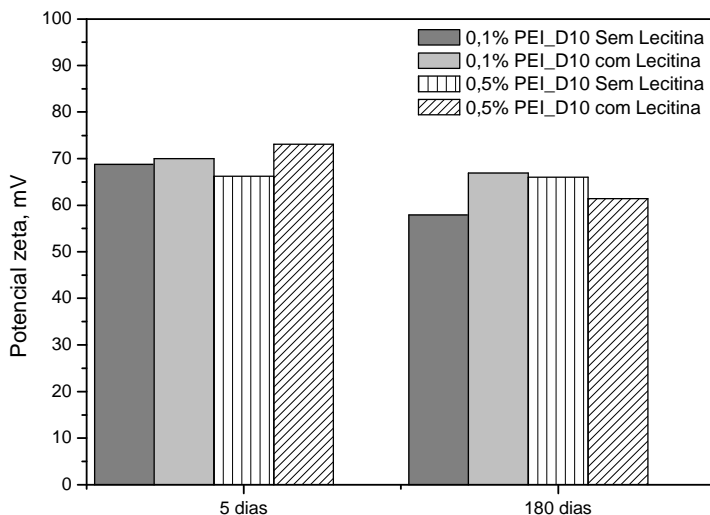
**Figura 27.** Diâmetro médio para as emulsões estabilizadas com PEI\_D10 medidos no 5º dia e após o período de 180 dias de emulsificação.

Para as emulsões com maior concentração de polímero (0,5%) não houve diferença significativa no tamanho das gotículas na presença ou ausência do surfactante, apresentando diâmetros médios em torno de 140 nm. Após o período de 180 dias, observou-se uma leve redução no diâmetro médio em todas emulsões. Todas as emulsões apresentaram índice de polidispersidade (IP) inferiores a 0,3 conforme apresentado na Tabela 1, sendo que quanto menor os valores de IP menos polidisperso é o sistema. Assim, os IP dos sistemas avaliados indicam emulsões pouco polidispersas.

**Tabela 1.** Índices de polidispersidade para as emulsões estabilizadas com PEI\_D10 na ausência e na presença de lecitina, avaliados no quinto dia e após o período de 180 dias de emulsificação.

Amostra	Concentração do Polímero (%)	IP	
		5º dia	180º dia
Sem Lecitina	0,1	0,252	0,182
	0,5	0,133	0,262
Com Lecitina	0,1	0,106	0,150
	0,5	0,118	0,295

Com relação ao potencial zeta, todas as emulsões apresentaram valores positivos e elevados, em torno de 70 mV, o que era de se esperar por ser o PEI\_D10 um polieletrólito catiônico. Um valor de potencial zeta relativamente alto é fundamental para a estabilidade das emulsões, pois forças repulsivas tendem a evitar a agregação em devido as colisões ocasionais de gotículas adjacentes.<sup>42</sup> Os valores de potencial zeta obtidos para as emulsões com e sem lecitina e com diferentes concentrações de PEI\_D10 estão apresentados na Figura 28.



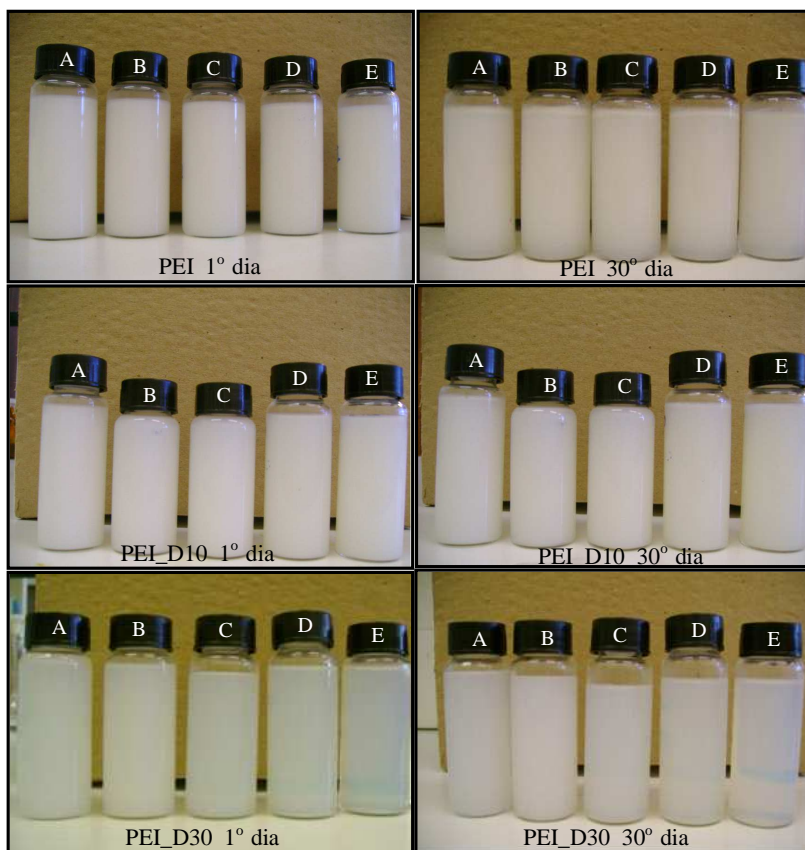
**Figura 28.** Potencial zeta para emulsões estabilizadas com PEI\_D10, na presença e ausência de lecitina, após 5 e 180 dias de emulsificação.

Devido a estabilidade proporcionada pelo polímero modificado na ausência de lecitina, sobretudo para as emulsões que contêm maior concentração do polímero, optou-se por continuar os estudos utilizando apenas os polímeros para estabilizar as emulsões.

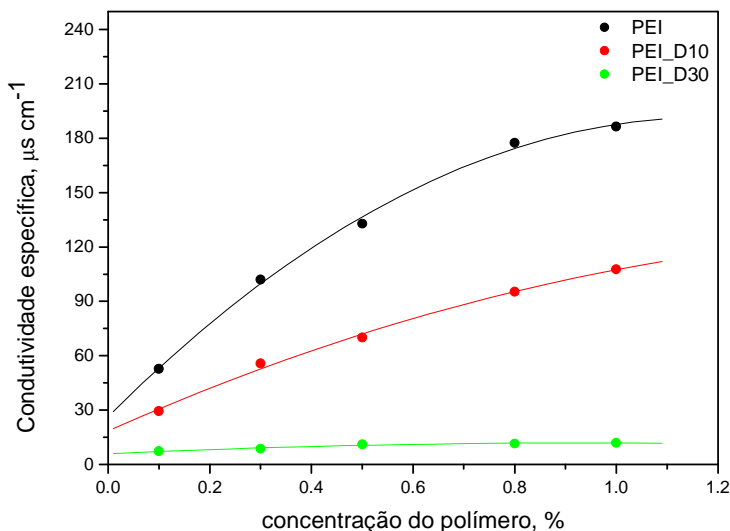
#### **4.4. Caracterização e avaliação da estabilidade das emulsões contendo PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30**

Avaliou-se a influência do PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30 como agentes estabilizantes de emulsões O/A, em que a modificação hidrofóbica do PEI foi realizada com o objetivo de aprimorar essa propriedade. Enquanto que os polímeros PEI e PEI\_D10 eram dissolvidos na fase aquosa, o polímero PEI\_D30 foi adicionado na fase oleosa das emulsões O/A devido a sua baixa solubilidade em água. A Figura 29 mostra as emulsões no primeiro dia e após 30 dias da emulsificação. As emulsões mostraram-se homogêneas e de aspecto leitoso. Um fato interessante é que as emulsões onde foi utilizado o PEI\_D30 apresentaram-se mais translúcidas com o aumento da concentração do polímero. Isso indica a formação de gotículas menores, o que leva a emulsões mais estáveis. Outro fato a ser observado é que após 30 dias de emulsificação, as emulsões contendo PEI apresentaram um processo de cremagem mais intenso do que nas demais, ou seja, já através de uma análise macroscópica elas aparentam ser menos estáveis que as demais emulsões.

A fim de avaliar a densidade das cargas dos polímeros foram realizadas medidas de condutividade específica das emulsões e os resultados estão apresentados na Figura 30. Observou-se que, tanto para as emulsões estabilizadas com PEI quanto para as estabilizadas com PEI\_D10, houve um aumento na condutividade específica com o aumento da concentração do polímero; entretanto, a taxa de incremento da condutividade com a concentração do polímero é menor nas emulsões estabilizadas com PEI\_D10, indicando densidade de carga menor que àquelas estabilizadas com PEI. Isto provavelmente é causado pela introdução dos grupos dodecila na estrutura do PEI e pela maior migração de cadeias poliméricas para a região interfacial das gotas, com diminuição do número de cadeias na fase aquosa. Como o polímero PEI\_D30 foi colocado na fase oleosa, ele pouco interfere na condutividade específica, apresentando valores bem baixos e sem elevação significativa com o aumento da concentração do mesmo na emulsão.



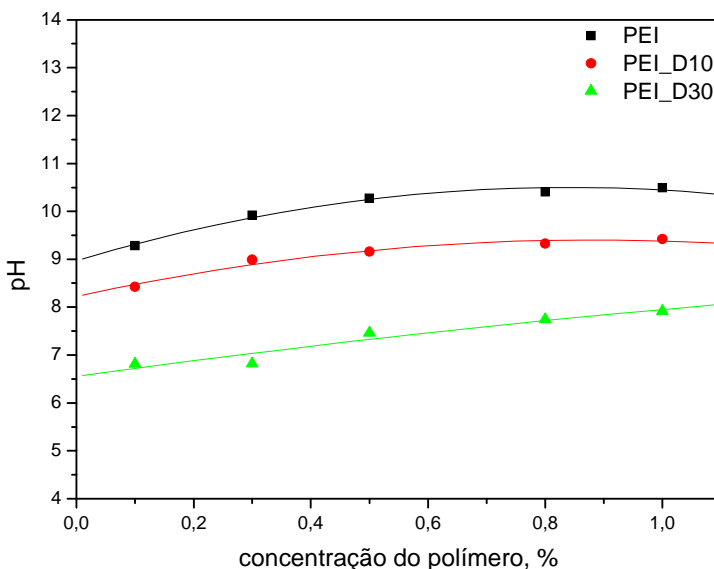
**Figura 29.** Emulsões óleo/água estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30 no primeiro dia e após 30 dias de emulsificação. Concentração dos polímeros nas emulsões: (A) 0,1%; (B) 0,3%; (C) 0,5%; (D) 0,8% e (E) 1,0%.



**Figura 30.** Condutividade específica para emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30.

Uma solução aquosa de PEI apresenta pH básico, pois os grupos amina do polímero atuam como uma base fraca, mas a modificação hidrofóbica do polímero reduz a sua capacidade de protonação, reduzindo sua basicidade. Outros trabalhos com modificações hidrofóbicas em polieletrólitos observaram o mesmo efeito da modificação sobre o pH.<sup>46</sup>

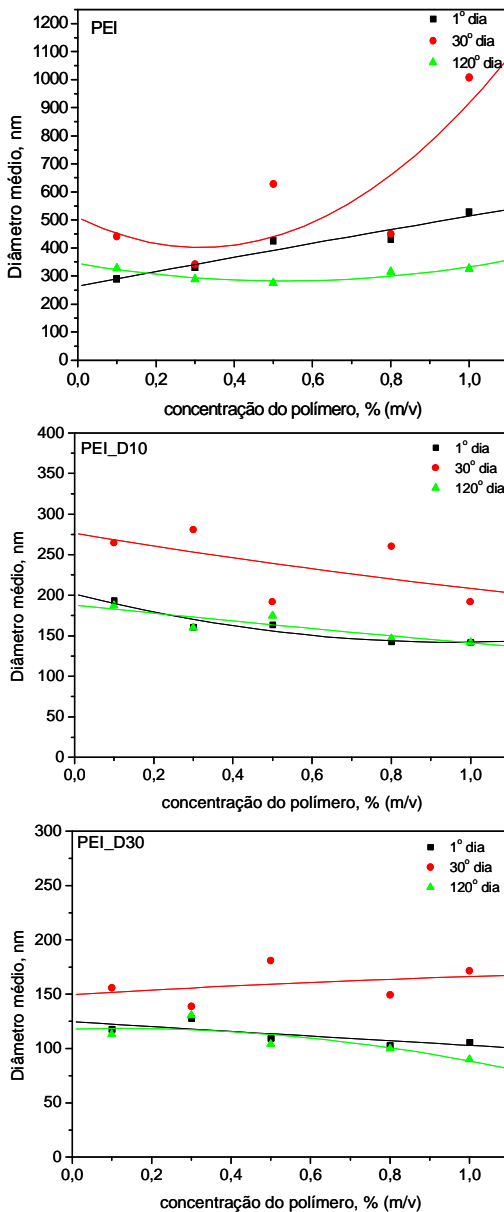
Assim, a influência sobre o pH das emulsões também foi verificado e os resultados estão apresentados na Figura 31. Os valores de pH obtidos para as emulsões são concordantes com os de condutividade elétrica, ou seja, as emulsões contendo PEI apresentam pH mais elevado, enquanto que as emulsões estabilizadas com PEI\_D10 mostraram-se menos básicas. As emulsões com PEI\_D30 apresentam pH próximo da neutralidade, havendo uma pequena elevação com o aumento da concentração do polímero.



**Figura 31.** Valores de pH para emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30.

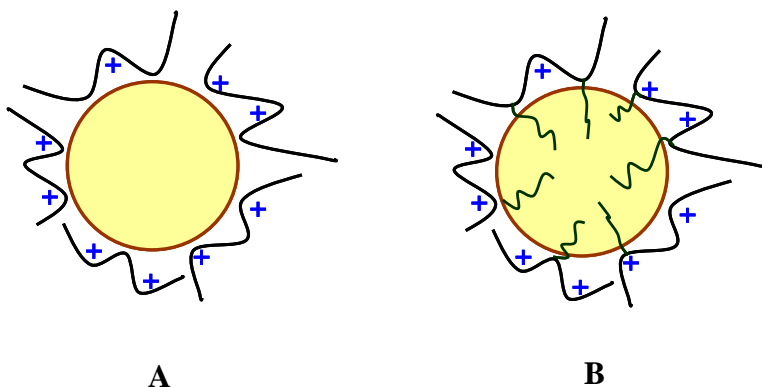
O diâmetro médio e a distribuição das gotículas é um importante parâmetro para avaliar a estabilidade das emulsões. Processos de instabilidade como floculação e coalescência podem ser analisados através da evolução do diâmetro médio e da distribuição do tamanho das gotículas. Na Figura 32 está apresentado o diâmetro médio para as emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30. No primeiro dia, as emulsões estabilizadas com o PEI apresentaram diâmetro médio entre 289 e 528 nm e observou-se que o tamanho das gotículas aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração de PEI. A substituição hidrofóbica aumentou a estabilidade das gotas menores: as emulsões estabilizadas com o PEI\_D10 apresentaram diâmetro médio menor, com valores entre 193 e 141 nm, sendo que neste caso os menores tamanhos foram encontrados para as amostras contendo maior concentração de polímero. Conforme observado macroscopicamente, as emulsões estabilizadas com o PEI\_D30 apresentaram os menores tamanhos de gotículas, com diâmetro médio entre 117 e 105 nm.





**Figura 32.** Diâmetro médio para as emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30 no 1º, 30º e 120º de emulsificação.

Após o período de 30 dias, as emulsões contendo PEI apresentaram diâmetros médios maiores, principalmente as constituídas com maiores concentrações de polímero, nas quais as gotículas atingiram diâmetros de cerca de  $1\mu\text{m}$ . Contudo, as emulsões contendo PEI\_D10 apresentaram-se mais estáveis, com menor variação de diâmetro das gotículas, não ultrapassando 280 nm. As emulsões estabilizadas com PEI\_D30 também apresentaram variação de tamanho menor que as estabilizadas com PEI, permanecendo abaixo de 200 nm. A maior estabilidade proporcionada pelo PEI\_D10 e pelo PEI\_D30 indica que os grupos dodecila proporcionaram uma maior interação hidrofóbica entre o polímero e a fase oleosa, conforme apresentado esquematicamente na Figura 33.

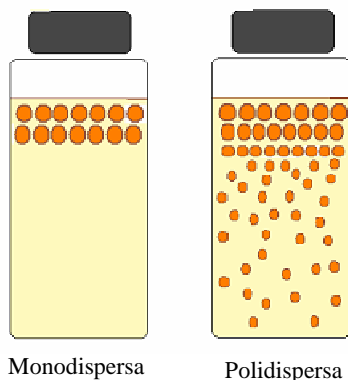


**Figura 33.** Representação esquemática da estabilização das emulsões com PEI (A) e PEI hidrofobicamente modificado (B).

Observou-se que após o período de quatro meses, todas as emulsões apresentaram uma redução no diâmetro médio de suas gotículas, apresentando valores aproximados com os obtidos no primeiro dia de emulsificação. Esse mesmo fato foi observado anteriormente, para as emulsões onde foi verificado a influência da lecitina na estabilidade com PEI\_D10.

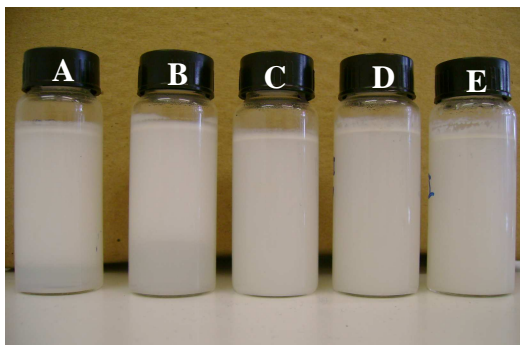
Uma provável causa desta diminuição do diâmetro médio das gotículas das emulsões com o decorrer do tempo pode ser atribuída ao processo de cremagem, observado na análise macroscópica. Nesse fenômeno de desestabilização, as gotículas migram para a parte superior das emulsões. No caso de emulsões polidispersas, ocorre um gradiente no tamanho das

gotículas, sendo que as maiores concentram-se no topo das emulsões, como pode ser observado na Figura 34.



**Figura 34.** Representação do processo de cremagem em emulsões O/A. <sup>8</sup>

Assim a redução do diâmetro pode ser influenciada pela amostragem para medidas, já que as alíquotas para análise eram, sempre, retiradas aproximadamente na parte central dos frascos. Esse processo de desestabilização ocorreu de maneira mais intensa nas emulsões estabilizadas com PEI, onde foi observado os maiores diâmetros médio, com maior processo de cremagem. Após os quatro meses foi possível observar macroscopicamente esse gradiente ocorrido na cremagem, como apresentado na Figura 35.



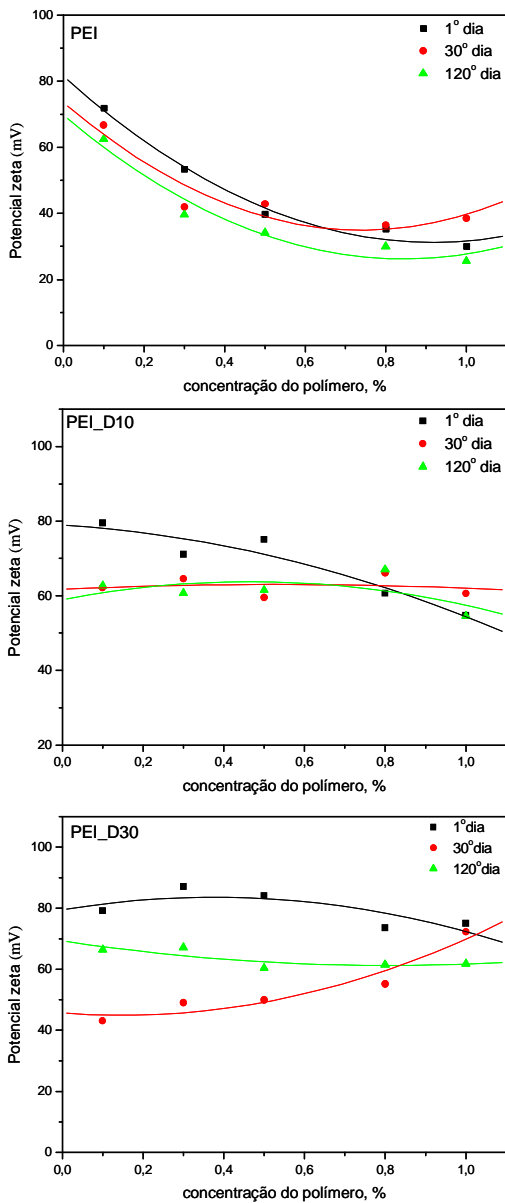
**Figura 35.** Emulsões O/A estabilizadas com PEI após 120 dias. Concentração do PEI nas emulsões: (A) 0,1%; (B) 0,3%; (C) 0,5%; (D) 0,8% e (E) 1,0%.

Esta maior estabilidade proporcionada pelo PEI\_D10 e PEI\_D30 pode também ser verificada através dos índices de polidispersidade (IP). A Tabela 2 apresenta os de IP obtidos no primeiro dia e após o período de 30 e 120 dias. Para as emulsões estabilizadas com PEI\_D10 e PEI\_D30, observou-se que os valores mantiveram-se inferiores a 0,3, mesmo após o período de 30 dias, ou seja, as emulsões estabilizadas com o polímero hidrofobicamente modificado apresentaram-se mais homogêneas. Os IP para o PEI encontram-se relativamente altos, principalmente após 30 dias, indicando emulsões polidispersas e menos estáveis, concordando com dados anteriores.

**Tabela 2.** Índices de polidispersidade para as emulsões estabilizadas com PEI e PEI\_D10 e PEI\_D30, avaliados no primeiro dia e após o período de 30 e 120 dias de emulsificação.

Polímero (%)	Índice de polidispersidade (IP)								
	PEI (tempo em dias)			PEI_D10 (tempo em dias)			PEI_D30 (tempo em dias)		
	1	30	120	1	30	120	1	30	120
0,1	0,404	0,361	0,332	0,196	0,272	0,212	0,192	0,244	0,188
0,3	0,391	0,364	0,313	0,139	0,238	0,181	0,243	0,262	0,276
0,5	0,398	0,528	0,287	0,168	0,206	0,223	0,175	0,232	0,202
0,8	0,437	0,449	0,403	0,120	0,173	0,185	0,168	0,286	0,191
1,0	0,484	0,751	0,345	0,085	0,243	0,128	0,272	0,315	0,229

Os valores de potencial zeta obtidos para estas emulsões estão apresentados na Figura 36. O elevado valor de potencial zeta, em geral maior que 30 mV (em módulo), proporciona uma maior estabilidade para as emulsões devido a ação de forças repulsivas que tendem a evitar possíveis agregações da fase interna.

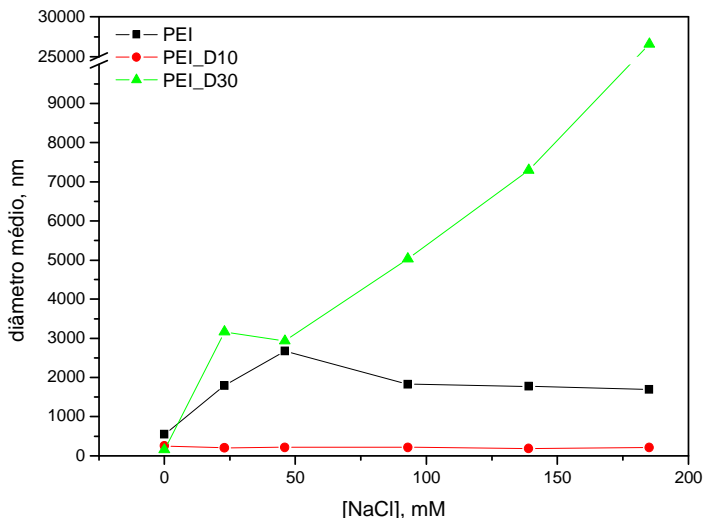


**Figura 36.** Potencial zeta para emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30, no primeiro dia e após 30 e 120 dias de emulsificação.

Todas as emulsões apresentaram potencial zeta positivo e elevado, sendo esses superiores a 30 mV. No entanto, houve uma redução do potencial zeta com o aumento da concentração de polímero para as emulsões estabilizadas com PEI (de 72 mV para 30 mV). Esse fato pode ser explicado se considerar que o PEI se comporta com um sal na fase aquosa e, portanto, o aumento de sua concentração eleva a força iônica do meio. O aumento da força iônica promove a contração da dupla camada elétrica difusa e, conseqüentemente, uma diminuição do potencial da partícula. Nas emulsões com o PEI\_D10 e PEI\_D30, o potencial zeta foi menos alterado permanecendo com potenciais mais elevados em relação ao PEI. Esse comportamento é, possivelmente, devido a introdução dos grupos hidrofóbicos na cadeia do polieletrólito, os quais diminuem a taxa de aumento da força iônica com o aumento da concentração de polímero e levam a um incremento na população de cadeias poliméricas que residem na interface com o óleo.

### **3.5. Influência da força iônica sobre a estabilidade**

A adição de um eletrólito pode desestabilizar as emulsões através da redução da repulsão eletrostática entre as gotículas. Muitos autores observaram a influência da força iônica sobre a estabilidade ao constatar o aumento no tamanho das gotículas com o aumento da concentração de um sal.<sup>47, 48</sup> A Figura 37 apresenta a influência da adição de NaCl sobre o diâmetro médio da gotículas das emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30. Neste experimento a concentração dos polímeros foi fixada em 0,1% e a concentração de NaCl variada até 185 mM. As emulsões estabilizadas com PEI e com PEI\_D30 apresentaram um significativo aumento do tamanho das gotículas com o acréscimo de sal, principalmente as emulsões estabilizadas com PEI\_D30, que apresentou diâmetro médio elevado com o aumento da força iônica. No entanto, as emulsões estabilizadas com PEI\_D10 não mostraram mudanças significativas no diâmetro médio com o aumento da força iônica.



**Figura 37.** Efeito da força iônica sobre o diâmetro médio das gotículas para emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30.

Os IP, apresentados na Tabela 3, também refletem esse efeito da adição de sal sobre a estabilidade. As emulsões estabilizadas com PEI e PEI\_D30 apresentaram altos valores de IP, em torno de 1,0, o que reflete a formação de emulsões muito polidispersas, conseqüentemente mais instáveis. Para as emulsões com PEI\_D10, os IP permaneceram em torno de 0,3, mesmo com a elevação da força iônica, concordando com os dados de diâmetro médio.

**Tabela 3.** Índices de polidispersidade para as emulsões estabilizadas com PEI e PEI\_D10 e PEI\_D30 na presença de NaCl.

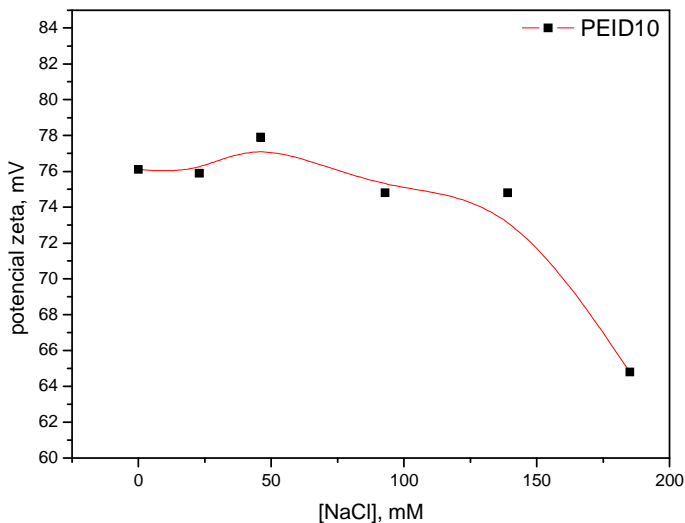
Concentração de NaCl, mM	Índice de polidispersidade		
	PEI	PEI_D10	PEI_D30
0	0,459	0,300	0,252
23	1,000	0,293	1,000
46	1,000	0,313	1,000
93	0,926	0,314	1,000
139	0,874	0,250	1,000
185	0,833	0,292	0,627

Esse comportamento se deve possivelmente ao fato de o derivado PEI\_D10 ter o balanço apropriado na partição do polímero entre a região interfacial das gotas e a fase aquosa. O PEI\_D30 deve ficar predominantemente na interface; isto torna a emulsão bastante susceptível à força iônica do meio, já que não possui outro mecanismo de proteção, que é dado pelas cadeias na fase aquosa: a depleção osmótica. Como a difusão das moléculas do solvente (pequenas) é maior do que as das moléculas do polímero, a aproximação de duas gotas cria uma região onde a concentração local de cadeias poliméricas é maior do que no resto do sistema. Com isso, surge um fluxo osmótico de solvente na tentativa de equilibrar o potencial químico da fase aquosa (equalizar a concentração). Talvez a introdução excessiva de cadeias alquílicas no PEI\_D30 diminua drasticamente a capacidade desta proteção, que certamente existe no PEI e PEI\_D10.

O PEI não derivado, embora possa atuar na depleção osmótica, tem pouco interesse pela interface e talvez não faça proteção eletro-estérica de maneira muito eficaz. O PEI\_D10 pode apresentar um bom HLB para este sistema, de maneira a fazer ambas proteções. Importante também dizer que, dada as polidispersidades apresentadas na Tabela 3 para PEI e PEI\_D30, não se pode confiar muito nos valores de diâmetro apresentados na Figura 35 para estas emulsões, uma vez que o formalismo utilizado para o tratamento das curvas de autocorrelação de DLS no Zetasizer é inadequado para sistemas muito polidispersos.

Com relação ao potencial zeta, quando se adiciona um eletrólito em um sistema coloidal ocorre uma compressão da dupla camada elétrica devido ao aumento da densidade de cargas iônicas presentes na camada difusa das partículas. Esta compressão reflete na distribuição de forças repulsivas presentes na vizinhança das partículas, reduzindo-as ou anulando a barreira de energia que impedia a agregação das partículas.<sup>47</sup> A Figura 38 mostra a redução do potencial zeta para as emulsões estabilizadas com o polímero PEI\_D10 devido a adição de sal.



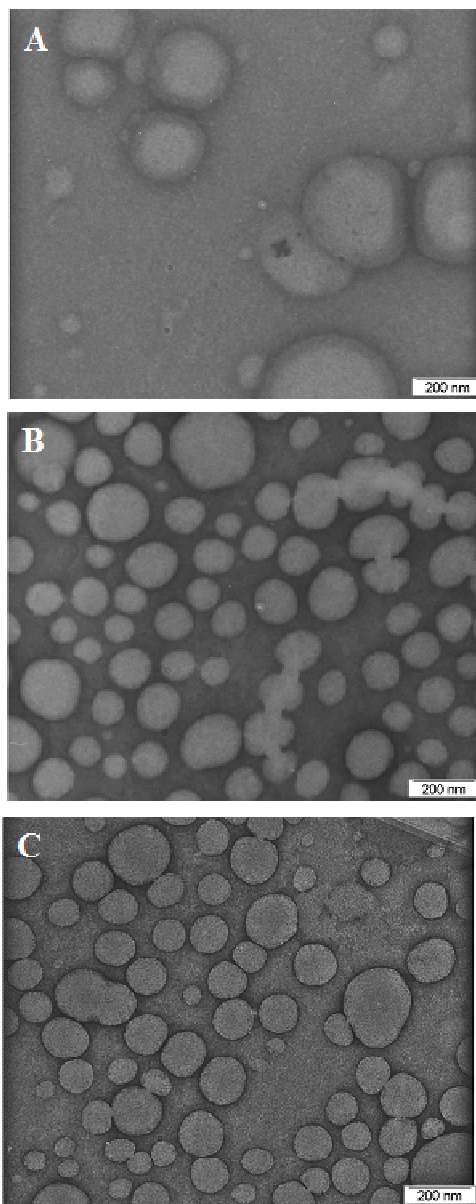


**Figura 38.** Efeito da força iônica sobre o potencial zeta para emulsões estabilizadas com PEI\_D10. A linha é guia para os olhos somente.

## 4.6. Caracterização das emulsões

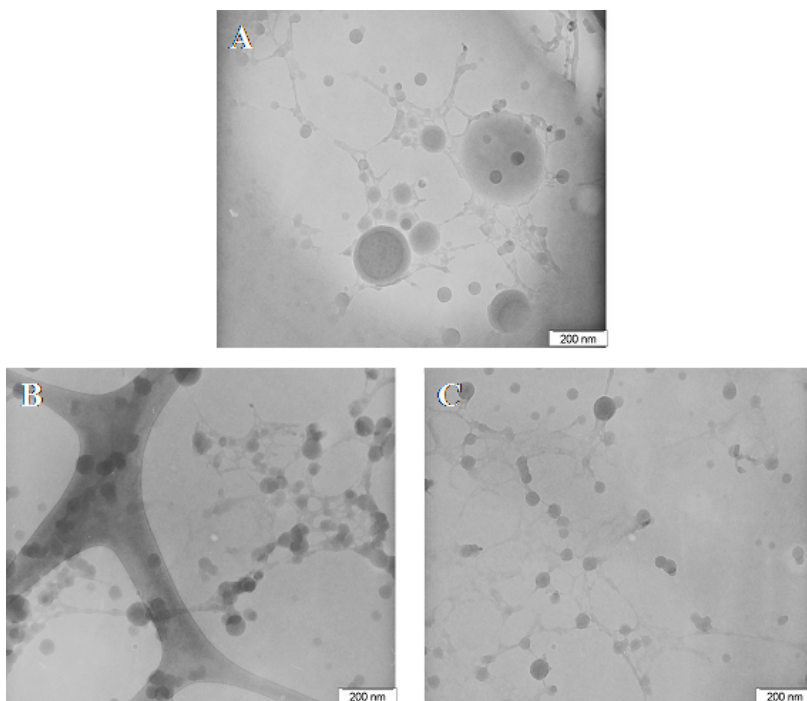
### 4.6.1. Microscopia de transmissão eletrônica (TEM)

A Figura 39 mostra imagens de microscopia de transmissão eletrônica de emulsões contendo 100 mg de óleo de rícino em 20 mL de fase aquosa, utilizando PEI e PEI hidrofobicamente modificado como estabilizante na concentração de 1%. A emulsão estabilizada com PEI (Figura 39(A)) não derivatizado apresenta gotas maiores, com alta polidispersidade em tamanho e grupos de gotas em situação de coalescência. A emulsão estabilizada com PEI\_D10 (Figura 39(B)) apresenta gotas menores e com menor polidispersidade em tamanho. Percebe-se também algumas gotas agrupadas em situação de coalescência. A estabilização com PEI\_D30 (Figura 39(C)) produziu uma emulsão similar a anterior, mas com menor frequência de grupos coalescentes.



**Figura 39.** Imagens de TEM de emulsões O/A estabilizadas com 1% de: (A) PEI, (B) PEI\_D10 e (C) PEI\_D30.

A Figura 40 apresenta imagens diretas das mesmas emulsões, porém utilizando a técnica de Cryo-TEM, onde a emulsão é congelada e a fase interna não é evaporada; desta forma, obtém-se um retrato do que verdadeiramente ocorre na dispersão. Outra vantagem é que o uso de corante não é necessário. Todas as imagens mostram filamentos contínuos de material orgânico; atribui-se este fenômeno à diferença no sinal do  $\Delta_{fus}V$  e no valor da  $T_{fus}$  do óleo e da água: durante o congelamento e conseqüente dilatação da água a fase oleosa ainda líquida é espremida para fora de algumas gotas, levando ao vazamento e posterior congelamento do óleo.



**Figura 40.** Imagens de Cryo-TEM de emulsões o/w estabilizadas com (A) PEI, (B) PEI\_D10 e (C) PEI\_D30. As faixas escuras vistas em (B) são parte da estrutura do suporte da amostra.

Em relação à qualidade do estabilizante, o mesmo comportamento observado nas imagens de TEM foi confirmado por Cryo-TEM: as emulsões preparadas com PEI\_D10 e PEI\_D30 apresentam gotas menores e são menos polidispersas. A emulsão estabilizada com PEI\_D30 (Figura 40(C)) foi a que apresentou menor ocorrência de grupos coalescentes.

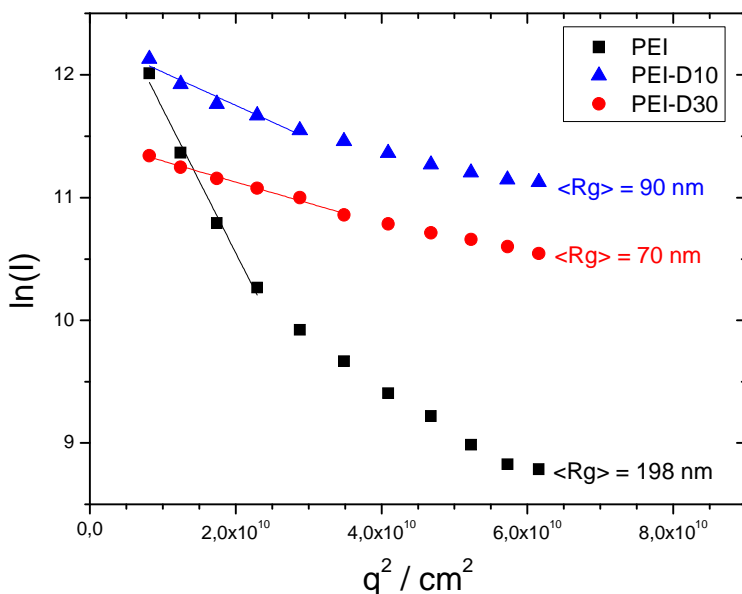
As imagens de TEM concordam com os valores obtidos anteriormente para o diâmetro médio dessas emulsões (Figura 31), que também demonstraram que as emulsões estabilizadas com PEI não modificadas apresentam gotículas com tamanhos maiores.

#### 4.6.2. Espalhamento de luz Estático (SLS) e Dinâmico (DLS).

A dependência angular da intensidade de espalhamento de luz de emulsões O/A contendo 100 mg de óleo de rícino em 20 mL de fase aquosa, com PEI e derivados na concentração de 1% como estabilizantes foi também investigada. A Figura 41 exibe um gráfico de Guinier, de acordo com a aproximação dada pela equação 6 abaixo:

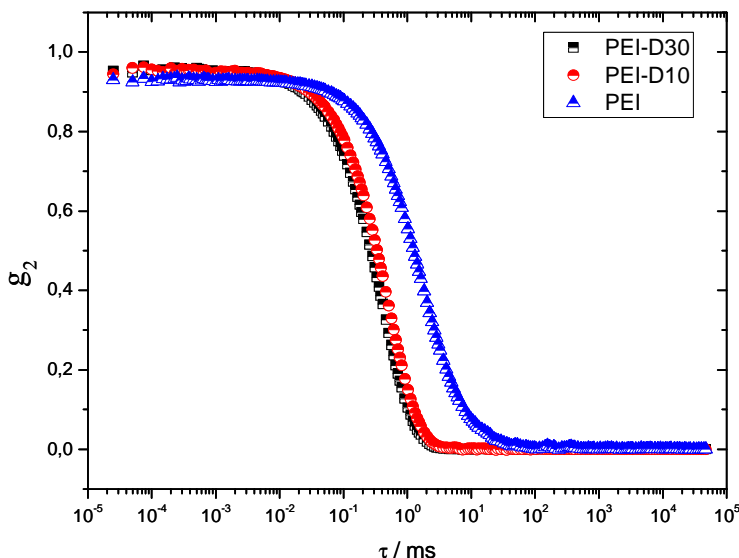
$$\ln I = \ln I_0 - q^2 \left( \frac{R_g^2}{3} \right) \quad \text{Eq. 6}$$

De acordo com a aproximação, é possível se obter o raio de giração  $R_g$  a partir do coeficiente angular da seção linear das curvas no limite ( $q \rightarrow 0$ ). A figura mostra que o valor do raio de giração médio é maior quando o estabilizante é o PEI não modificado e que a inserção de grupos hidrofóbicos na cadeia do PEI produz emulsões com gotas menores. Ainda, é possível observar que somente a curva referente à emulsão estabilizada por PEI\_D30 apresenta uma dependência linear em toda a faixa angular, fato que é um indicativo de sistema monodisperso. O aumento da polidispersidade é observado nas curvas PEI\_D10 e PEI, sendo que estas emulsões possuem gotas de vários tamanhos distintos e as curvas deixam de ser lineares em toda a faixa angular.



**Figura 41.** Gráfico de Guinier para os dados de espalhamento de luz estático (SLS) de emulsões O/A estabilizadas com PEI e derivados, conforme legenda inserida no gráfico. Os valores de raio de giração médio inseridos foram calculados com base no coeficiente angular dos segmentos lineares das curvas (vide texto).

Simultaneamente, medimos também o espalhamento de luz dinâmico (DLS) destas mesmas emulsões. Na Figura 42 está apresentado as curvas de autocorrelação  $g_2$  de DLS no ângulo de  $90^\circ$  de emulsões O/A estabilizadas com PEI e seus derivados. Observa-se que para a emulsão estabilizada com o PEI, a curva tem um tempo de relaxação maior do que o apresentado pelas emulsões estabilizadas com os polímeros modificados. Isso ocorre principalmente devido ao fato da emulsão estabilizada com PEI apresentar gotículas com tamanhos superiores as emulsões obtidas com a utilização dos derivados. Através desses dados foi possível obter os histogramas de distribuição de tamanho apresentados na Figura 43.

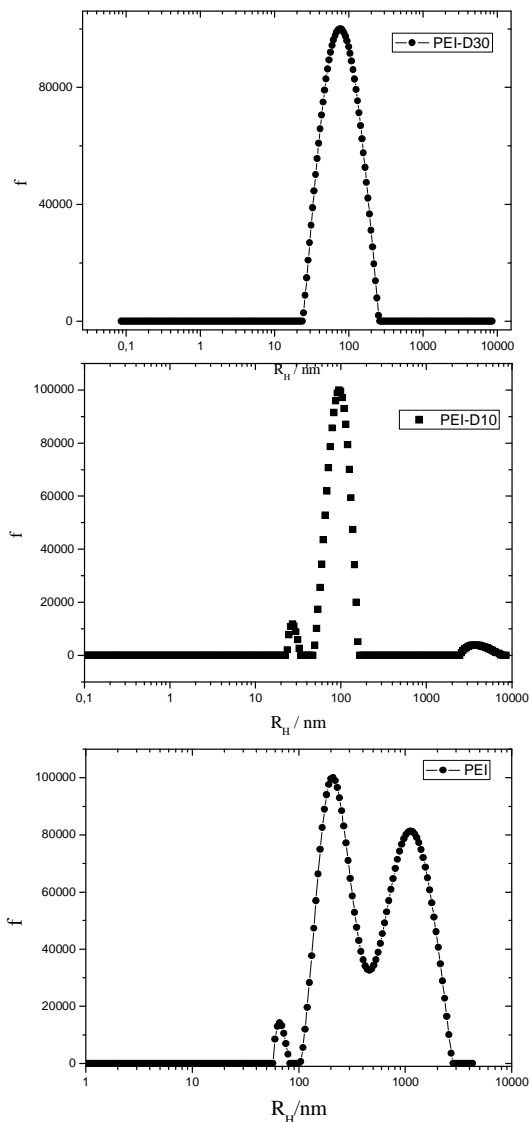


**Figura 42.** Curvas  $g_2$  de autocorrelação de DLS no ângulo de  $90^\circ$  de emulsões O/A estabilizadas com PEI e derivados.

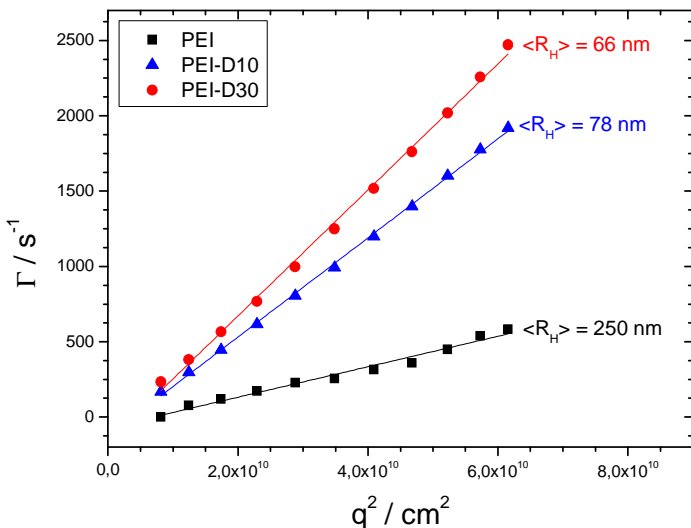
A análise dos histogramas de distribuição de tamanho permitiu verificar que as emulsões estabilizadas com PEI apresentam gotículas maiores e com grande distribuição de tamanho. Enquanto que as emulsões contendo os polímeros modificados mostram gotículas menores e com menor polidispersidade, concordando com os dados anteriores.

A Figura 44 apresenta a dependência angular da frequência média de relaxação das curvas de autocorrelação de DLS das emulsões e os respectivos raios hidrodinâmicos médios, calculados com base na Equação de Stokes-Einstein (Eq. 4).

Da mesma forma que os resultados de SLS, os valores de DLS indicam que as emulsões estabilizadas com PEI hidrofobicamente modificado têm gotas menores e menos polidispersas em tamanho.



**Figura 43.** Histograma de distribuição de tamanho obtido pela análise regularizada CONTIN<sup>49</sup> da curva de autocorrelação de DLS no ângulo de 90° da emulsão estabilizada com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30.



**Figura 44.** Dependência angular da frequência de relaxação das curvas de autocorrelação do espalhamento de luz dinâmico (DLS) de emulsões O/A estabilizadas com PEI e derivados, conforme legenda inserida no gráfico. Os valores de raio hidrodinâmico médio foram calculados através da equação de Stokes-Einstein, usando o coeficiente angular das curvas como  $D_0$  (vide texto).

Algo bastante interessante quando estabelecemos uma razão entre os valores de  $\langle R_g \rangle$  e  $\langle R_H \rangle$ : esta razão é conhecida como fator  $p$  e é um indício da morfologia da amostra. As emulsões estabilizadas com PEI, PEI\_D10 e PEI\_D30 apresentam  $p = 0,80$ ,  $p = 1,15$  e  $p = 1,06$ , respectivamente, valores muito próximos ao idealmente observado em um sistema formado por esferas ocas monodispersas ( $p=1$ ). Como o espalhamento tem origem quase que exclusivamente devido ao material polimérico, pode-se muito bem interpretar uma gota de emulsão estabilizada com polímero como sendo uma esfera “oca”, pois o óleo não contribui para o espalhamento de maneira relevante.<sup>50</sup>



## 5. CONCLUSÕES

A modificação hidrofóbica do PEI resultou em dois derivados com diferentes graus de substituição: ~ 10% (PEI\_D10) e ~ 30% (PEI\_D30). Os produtos da modificação hidrofóbica do PEI foram caracterizados por RMN  $^1\text{H}$  e fluorescência. Neste último caso usou-se o pireno como sonda para analisar o aumento da hidrofobicidade do polímero.

O perfil de interação entre o polímero modificado e surfactantes é distinto do que se observa com o polímero não modificado, comprovando o sucesso no aumento da hidrofobicidade e do caráter anfifílico com a modificação do polímero.

As emulsões O/A obtidas apresentaram aspecto leitoso e homogêneo. A utilização do PEI e seus derivados para estabilização de emulsões O/A, indicou que a modificação hidrofóbica do PEI possibilitou a obtenção de emulsões mais estáveis. As emulsões estabilizadas com o PEI não modificado apresentaram-se mais polidispersas, com os maiores diâmetros médios e conseqüentemente menos estáveis. Um fato interessante é que as emulsões onde foi utilizando o PEI\_D30 apresentaram-se mais translúcidas com o aumento da concentração do polímero.

As emulsões preparadas com o PEI\_D10 foram as mais resistentes ao aumento da força iônica do meio e, acrescentando-se os dados condutivimétricos, pode-se afirmar que este polímero é o que apresenta o HLB mais adequado para este tipo de emulsão.

A utilização da técnica de TEM possibilitou a visualização das emulsões estabilizadas com os diferentes polímeros. Aliando as técnicas de SLS e DLS foi possível concluir que as gotículas das emulsões apresentaram-se esféricas, sendo que as estabilizadas com PEI\_D10 e PEI\_D30 apresentaram gotas com diâmetros menores e menos polidispersas. O valor do raio de giro médio foi maior quando utilizado o PEI não modificado como estabilizante, e a inserção de grupos hidrofóbicos na cadeia do PEI proporcionou a formação de emulsões com gotículas menores.

## 6. REFERÊNCIAS

1. MYERS, D. Surfaces, Interfaces, and Colloids: Principles and Applications. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1999.
2. CHAVES, E. S. Determinação de elementos traço em diesel e biodiesel por espectrometria de emissão atômica em chama e por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com introdução da amostra por vaporização eletrotérmica. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
3. ANSEL, H. C., POPOVICH, N. G., ALLEN Jr, L. V. Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. tradução Terezinha Oppido, Edi Gonçalves de Oliveira, Ivone Castilho Benedetti. São Paulo: Premier, 6. ed. 2000.
4. MELO, E. M. Estabilidade de emulsões de petróleo em sistemas pressurizados. Dissertação de Mestrado, Universidade Tiradentes, Aracaju, 2007.
5. WULFF-PÉREZ, M. A. *et al.* Stability of emulsions for parenteral feeding: Preparation and characterization of o/w nanoemulsions with natural oils and Pluronic f68 as surfactant. Food Hydrocolloids, 2009, 23 1096–1102.
6. WANG, L. *et al.* Nanoemulsions Prepared by a Two-Step Low-Energy Process. Langmuir, 2008, 24, 6092-6099.
7. LEAL-CALDERON, F., SCHMITT, V., BIBETTE, J. Emulsion Science -Basic Principles. 2. ed. New York: springer, 2007.
8. TADROS, T. F. Applied surfactants – principles and applications. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005.
9. HOLMBERG, K., JONSSON, B., KRONBERG, B., LINDMAN, B. Surfactants and Polymers in Aqueous Solution. 2. ed. England: John Wiley & Sons Ltd, 2003.
10. HEURTAULT, B. *et al.* Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. Biomaterials, 2003, 24, 4283–4300.

11. FRIBERG, S., LARSSON, K., SJÖBLOM, J. Food emulsions. 4. ed. New York: Marcel Dekker, Inc. 1997.
12. SHAW, D. J. Introdução a química dos colóides e de superfícies. São Paulo: Edgard Blücher, 1975.
13. SCHONS, E. M. Desestabilização de emulsões visando a redução do teor de óleo em água. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Ouro Preto, 2008.
14. OGAWA, S., DECKER, E. A., MCCLEMENTS, D. J. Production and Characterization of O/W Emulsions Containing Cationic Droplets Stabilized by Lecithin-Chitosan Membranes. J. Agric. Food Chem. 2003, 51, 2806-2812.
15. MUN, S., DECKE, E. A., MCCLEMENTS, D. J. Effect of molecular weight and degree of deacetylation of chitosan on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant-chitosan membranes. J. Colloid Interface Sci. 2006, 296, 581-590.
16. FORMARIZ, T. P. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol. 41, n. 03, jul./set., 2005.
17. CUNHA, R. E. P. Modelagem matemática da separação gravitacional em emulsões de petróleo. Dissertação de Mestrado, Universidade Tiradentes, Aracaju, 2007.
18. TADROSA, T. F. *et al.* Stevens. Stabilization of emulsions using polymeric surfactants based on inulin. Adv. Colloid Interface Sci. 2004, 108, 207-226.
19. [http://www.malvern.com/LabEng/industry/colloids/dlvo\\_theory.htm](http://www.malvern.com/LabEng/industry/colloids/dlvo_theory.htm). Acesso em 19/03/2009.
20. TAUER, K. Emulsions - Part 2: a little (theory): emulsion stability. Disponível em: [http://www.mpikggolm.mpg.de/pdf/KolloidChemie/Scripte/Micelles\\_an](http://www.mpikggolm.mpg.de/pdf/KolloidChemie/Scripte/Micelles_an)

d\_Emulsions\_Tauer\_WS\_2005-2006/Emulsions\_-2.pdf. Acesso em: 10/07/2009.

21. CHUAH, A. M. Effect of chitosan on the stability and properties of modified lecithin stabilized oil-in-water monodisperse emulsion prepared by microchannel emulsification. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23, 600–610.

22. MOREAU, L. *et al.* Production and Characterization of Oil-in-Water Emulsions Containing Droplets Stabilized by  $\alpha$ -Lactoglobulin-Pectin Membranes. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 6612-6617.

23. GUZEY, D., MCCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2006, 128, 227–248.

24. HARNSILAWAT, T., PONGSAWATMANI, R., MCCLEMENTS, D. J. Influence of pH and Ionic Strength on Formation and Stability of Emulsions Containing Oil Droplets Coated by  $\alpha$ -Lactoglobulin-Alginate Interfaces. *Biomacromolecules* 2006, 7, 2052-2058.

25. RADEVA, T. physical chemistry of polyelectrolites. Editora Marcel Dekker, Inc, 24. surfactant science series, vol 99, 2001.

26. NOTE, C. *et al.* Effect of a new hydrophobically modified polyampholyte on the formation of inverse microemulsions and the preparation of gold nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.* 2007, 308, 162–169.

27. NOTE, C. Influence of Hydrophobically Modified Polyelectrolytes on Nanoparticle Synthesis in Self-Organized Systems and in Water. Dissertação de Mestrado, Universidade de Potsdam, 2006.

28. WINNIK, F. M., REGISMOND, S. T. A. Fluorescence methods in the study of the interactions of surfactants with polymers. *Colloids Surf.*, A. 1996, 118, 1 - 39.

29. SALAMONE, J. C. Polymeric materials encyclopedia, vol. 5. 1996. Disponível em: <http://books.google.com.br>. Acesso em 18/08/2009.

30. NÖDING, G., HEITZ, W. Amphiphilic poly(ethyleneimine) based on long-chain alkyl bromides. *Macromol. Chem. Phys.* 1998, 199, 1637–1644.
31. WINDSOR, R., NEIVANDT, D J., DAVIES P. B. Adsorption of Sodium Dodecyl Sulfate in the Presence of Poly(ethylenimine) and Sodium Chloride Studied Using Sum Frequency Vibrational Spectroscopy. *Langmuir*, 2001, 17, 7306-7312.
32. WANG, H., WANG, Y., YAN, H. Binding of Sodium Dodecyl Sulfate with Linear and Branched Polyethyleneimines in Aqueous Solution at Different pH Values, *Langmuir*, 2006, 22, 1526-1533.
33. LUKASHENKO, S. S. *et al.* Systems Based on the Hydrophobically Modified Poly(ethylene imines) and Surfactants: Aggregation and Catalysis. *Colloid Journal*, 2008, 70, 317–326.
34. OSKUEE, R. K. *et al.* Modified polyethyleneimine: self assembly nanoparticle forming polymer for pDNA Delivery. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2008, 11, 33-40.
35. MÉSZÁROS, R. *et al.* Interaction of Sodium Dodecyl Sulfate with Polyethyleneimine: Surfactant-Induced Polymer Solution Colloid Dispersion Transition. *Langmuir* 2003, 19, 609-615.
36. WINNIK, M. A., BYSTRYAK, S. M., CHASSENIEUX, C. Study of Interaction of Poly(ethylene imine) with Sodium Dodecyl Sulfate in Aqueous Solution by Light Scattering, Conductometry, NMR, and Microcalorimetry. *Langmuir*, 2000, 16, 4495-4510.
37. WINNIK, M. A., BYSTRYAK, S. M. Interaction of Pyrene-Labeled Poly(ethylene imine) with Sodium Dodecyl Sulfate in Aqueous Solution. *Macromolecules*, 1999, 32, 624-632.
38. BYSTRYAK, S. M., WINNIK, M. A. Unusual Conductivity Changes for Sodium Dodecyl Sulfate Solutions in the Presence of Polyethyleneimine and Polyvinylamine. *Langmuir*, 1999, 15, 3748-3751.
39. FELIPPE, ARLINDO C. Auto-associação do colato de sódio (NaC) em misturas com o surfactante aniônico dodecil sulfato de sódio (SDS) e

o polímero neutro hidrossolúvel poli(óxido de etileno) (PEO). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

40. SCHARTL, W. Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions, Springer, Berlin, 2007.

41. Zetasizer Nano Series – Manual do usuário. Issue 2.1 July 2004. Malvern Instruments Ltda, Inglaterra, 2004.

42. FRONZA, T., CAMPOS, A., TEIXEIRA, H. Nanoemulsões como Sistemas de Liberação para Fármacos Oftálmicos. Acta Farm. Bonaerense, 2004, 23, 558-66.

43. SCHAFFAZICK, S. R., GUTERRES, S. S. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. Quim. Nova, 2003, 26, 726-737.

44. WANG, W. *et al.* Self-assembly of cetyl linear polyethyleneimine to give micelles, Vesicles, and dense nanoparticles. Macromolecules 2004, 37, 9114-9122.

45. JOHNSON, T. W., KLOTZ, I. M. Preparation and Characterization of Some Derivatives of Poly(ethylenimine). Macromolecules, 1974, 7, 149-153.

46. GRIFFITHS, P. C. Derivatizing weak polyelectrolytes—Solution properties, self-aggregation, and association with anionic surfaces of hydrophobically modified poly(ethylene imine). J. Colloid Interface Sci. 2007, 314, 460–469.

47. SAITO, M. Comparison of stability of bovine serum albumin-stabilized emulsions prepared by microchannel emulsification and homogenization. Food Hydrocolloids, 2006, 20, 1020–1028.

48. KLINKESORN, U., NAMATSILA, Y. Influence of chitosan and NaCl on physicochemical properties of low-acid tuna oil-in-water emulsions stabilized by non-ionic surfactant. Food Hydrocolloids, 2009, 23, 1374–1380.

49. PROVENCHER, S.W. Inverse problems in polymer characterization: Direct analysis of polydispersity with photon correlation spectroscopy. Makromol. Chem. 1979, 180, 201-209.
50. SCHARTL, W. Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions, Springer, Berlin, 2007.